

NICHE Journal of Tropical Biology

Available online: <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/niche>

Pemanfaatan khamir inulinolitik *indigenous* ampas tebu (bagasse) sebagai penghasil biokatalis inulinase dalam produksi gula rendah kalori

The utilization of inulinolytic *indigenous* sugarcane waste (*bagasse*) as a produce inulinase biocatalist in production low sugar calories

Moch Ali Utomo^{a*}, Tia Erfianti^a, Dewi Ayu Maryati^a, Romario Dion^b, Pragati Wira Anggini^b,
Wijanarka^a, dan Mochamad Hadi^c

^aLaboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang 50275, Indonesia

^bLaboratorium Bioteknologi, Program Studi Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang 50275, Indonesia

^cLaboratorium Ekologi dan Biosistemika, Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang 50275, Indonesia

ABSTRACT

Low calorie sugar is an alternative sweetener with low or even zero calories that can use inulin as its raw material. Inulin is a polysaccharide that can be used as a raw material for the production of high fructose syrup (HFS) by hydrolyzing it into fructose using the inulinase. The production of inulinase in Indonesia still relies on imports and is limited. The exploration is needed to produce inulinase such as by utilizing inulinolytic yeasts obtained from bagasse. Bagasse is a material that has great potential as a carbon source in the form of inulin which can support the growth of inulinolytic yeasts. Based on the literature review, it was found a potential yeast in bagasse and had inulinolytic activity like *Kluyveromyces marxianus*. The part of plant as raw material that has the highest inulin content is dahlia tuber. Optimization of inulinase activity in yeast on bagasse can be done by adding Ca²⁺ metal ion as a cofactor. The innovative use of metal ion Ca²⁺ in inulinolytic yeast in bagasse has the potential to produce high amounts of enzymatic activity and the use of dahlia tubers as a substrate increases fructose levels for low calorie sugar production on industrial scale.

Keywords: *Inulinase, Inulinolytic Yeast, Bagasse, Dahlia tuber, Low Calorie Sugar*

ABSTRAK

Gula rendah kalori merupakan pemanis alternatif dengan kandungan kalori yang rendah bahkan nol yang dapat menggunakan inulin sebagai bahan bakunya. Inulin merupakan salah satu polisakarida yang dapat digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan *high fructose syrup* (HFS) dengan cara dihidrolisis menjadi bentuk monomer berupa fruktosa dengan menggunakan enzim inulinase. Produksi enzim inulinase di Indonesia masih mengandalkan impor dan terbatas sehingga diperlukan eksplorasi penghasil enzim inulinase seperti dengan memanfaatkan khamir inulinolitik yang diperoleh dari ampas tebu. Ampas tebu merupakan salah satu material yang memiliki potensi besar sebagai penyedia sumber karbon berupa inulin yang dapat mendukung pertumbuhan khamir inulinolitik. Berdasarkan kajian literatur, ditemukan khamir yang sangat potensial pada ampas tebu serta memiliki aktivitas inulinolitik seperti *Kluyveromyces marxianus*. Bagian tanaman sebagai bahan baku yang memiliki kandungan inulin tertinggi adalah umbi dahlia. Optimalisasi aktivitas inulinase pada khamir pada ampas tebu dapat dilakukan dengan penambahan ion logam Ca²⁺ sebagai kofaktor. Inovasi penggunaan ion logam Ca²⁺ sebagai kofaktor dan penggunaan umbi dahlia sebagai substrat pada khamir inulinolitik pada ampas tebu berpotensi menghasilkan aktivitas enzimatik dalam jumlah yang tinggi dan meningkatkan kadar fruktosa untuk produksi gula rendah kalori pada skala industri.

Kata kunci: *Inulinase, Khamir Inulinolitik, Bagasse, Umbi Dahlia, Gula Rendah Kalori.*

*Penulis korespondensi: wijanarka1810@gmail.com

Diterima 3 Juni 2021, Disetujui 11 September 2021

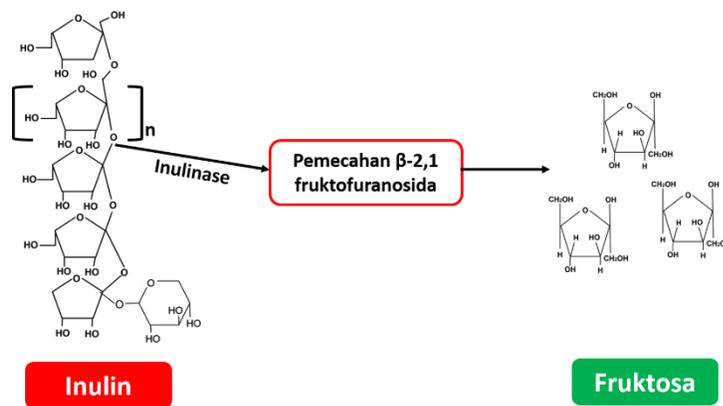
Disarankan menyitasi artikel ini sebagai: Utomo et al, *NICHE J Trop Bio* (2022) 4(2) 56-63

I. PENDAHULUAN

Inulin merupakan salah satu polisakarida yang dapat ditemukan di berbagai tanaman seperti pada dandelion (*Taraxacum officinale*), sawi putih (*Cichorium intybus*), dahlia (*Dahlia pinnata*), dan asparagus (*Asparagus officinalis*) (Chi *et al.*, 2011). Inulin memiliki banyak manfaat, diantaranya sebagai *bifidogenic* yaitu mampu menjaga pertumbuhan *Bifidobacterium* pada usus besar, merangsang sistem kekebalan tubuh, mengurangi risiko osteoporosis, mengurangi risiko kanker usus, mengurangi konsentrasi urea dan asam urat, serta dapat dimanfaatkan sebagai probiotik (Sandiya *et al.*, 2014).

Inulin dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan gula rendah kalori melalui proses fermentasi sebagai alternatif baru pengganti amilum karena penggunaan bahan baku berupa amilum hanya dapat memperoleh persentase kadar fruktosa sebesar 45% serta membutuhkan pengolahan yang lebih kompleks dengan menggunakan 3 jenis enzim seperti α -amilase, glukoamilase, dan glukosa isomerase, sedangkan produksi gula fruktosa dengan penggunaan bahan baku berupa inulin dapat mencapai persentase kadar fruktosa sebesar 95% dan hanya membutuhkan 1 jenis enzim yaitu enzim inulinase (Rawat, 2015; Fitriana *et al.*, 2018).

Inulinase (EC 3.2.1.80) merupakan enzim hidrolase dan di golongkan sebagai enzim ekstraseluler yang mampu menghidrolisis inulin menjadi monomernya berupa fruktosa dengan memotong ikatan β -2,1 pada terminal satuan unit fruktosa dari inulin (Garuba dan Onilude, 2018; Ma *et al.*, 2016). Prinsip pemotongan enzim inulinase dalam menghidrolisis inulin menjadi fruktosa berdasarkan sumber pustaka tersebut dapat ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Prinsip pemotongan enzim inulinase (Analisis Penulis, 2020).

Produksi enzim inulinase di Indonesia saat ini belum banyak dikembangkan karena masih mengandalkan impor dan sangat terbatas sehingga perlu dilakukan eksplorasi penghasil enzim inulinase dengan cara memanfaatkan organisme seperti tumbuhan maupun mikroorganisme yang mampu dalam menghasilkan enzim tersebut. Proses dalam memperoleh inulinase dari tumbuhan dianggap cukup sulit. Alternatif lain yang dapat digunakan untuk memproduksi enzim inulinase adalah mengisolasi khamir inulinolitik. Khamir inulinolitik dapat diisolasi dari bahan baku lokal Indonesia maupun dari limbah yang memiliki kandungan gula tinggi, salah satunya menggunakan limbah ampas tebu (*bagasse*).

Ampas tebu umumnya dapat digunakan sebagai sumber karbon pada khamir dalam memproduksi enzim inulinase (Mazutti *et al.*, 2006). Sumber karbon dapat ditemukan pada ampas tanaman tebu karena tanaman famili Poaceae seperti tanaman tersebut memiliki kandungan inulin yang dapat dimanfaatkan oleh khamir inulinolitik dalam memenuhi pertumbuhan dan perkembangan khamir tersebut (Singh dan Singh, 2010; Ekpélikpézé *et al.*, 2016)

Inulinase membutuhkan senyawa lain yang bukan protein seperti kofaktor dan koenzim dalam meningkatkan laju reaksi enzimatik. Kofaktor dapat berupa senyawa anorganik yaitu ion logam, sedangkan yang berupa senyawa organik nonprotein adalah koenzim. Kofaktor dalam bentuk ion logam tersebut akan berikatan dengan enzim secara kovalen atau non kovalen (Dali *et al.*, 2012). Ikatan tersebut akan membuat ion logam dapat menjaga kestabilan enzim, mengatur aktivitas enzim, menghubungkan enzim dengan substrat, merubah konstanta keseimbangan reaksi enzim, merubah tegangan permukaan protein enzim, menghilangkan inhibitor, menggantikan ion logam yang tidak efektif pada sisi aktif enzim maupun substrat, dan merubah konformasi enzim menjadi konformasi yang lebih aktif (Dali *et al.*, 2012).

Penelitian produksi gula rendah kalori dengan menggunakan enzim inulinase telah mengalami banyak perkembangan penelitian yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perkembangan Penelitian Khamir Inulinolitik Sebagai Penghasil Gula Rendah Kalori (Analisis Penulis,2020)

Temuan	Referensi
1. Produksi gula rendah kalori dapat menggunakan enzim inulinase dari khamir	Cazetta <i>et al.</i> , 2005
2. Ampas tebu dijadikan substrat khamir inulinolitik dalam produksi gula rendah kalori	Mazutti <i>et al.</i> , 2006
3. Proses enzimatik khamir dapat lebih dioptimalkan dengan penambahan kofaktor berupa ion logam Ca ²⁺	Venkateshwar <i>et al.</i> 2010
4. Ditemukan khamir ampas tebu yang diisolasi dari ampas tebu yaitu <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Suzuki <i>et al.</i> 2014

Tabel diatas merupakan tabel perkembangan penelitian khamir inulinolitik sebagai penghasil gula rendah kalori. Pada tahun 2005 Cazetta *et al* melakukan sebuah penelitian bahwa produksi gula rendah kalori dapat menggunakan enzim inulinase dari khamir. Hal ini menjadi data awal bahwa terdapat khamir yang dapat memproduksi enzim inulinase. Pada tahun 2006 Mazutti *et al* melakukan penelitian mengenai potensi dari ampas tebu yang dapat dijadikan sebagai substrat khamir inulinolitik dalam produksi gula rendah kalori. Berdasarkan temuan penelitian tersebut, dapat diasumsikan bahwa ampas tebu selain dapat dijadikan substrat khamir inulinolitik, ampas tebu juga berpotensi terdapat khamir inulinolitik yang lebih potensial daripada temuan sebelumnya. Pada tahun 2010 Venkateshwar *et al* melalui penelitiannya memperoleh data bahwa Proses enzimatik khamir dapat lebih dioptimalkan dengan penambahan kofaktor berupa ion logam Ca²⁺. Berdasarkan penelitian tersebut dapat diperoleh informasi bahwa ion logam kalsium dapat dijadikan sebagai kofaktor enzim agar proses enzimatik dapat berjalan lebih cepat. Kemudian pada tahun 2014 Suzuki *et al* melalui penelitiannya berhasil menemukan khamir ampas tebu yang diisolasi dari ampas tebu yaitu *Kluyveromyces marxianus*, sehingga dapat disimpulkan bahwa ampas tebu terdapat khamir inulinolitik dan berpotensi merupakan strain baru yang lebih prospektif daripada strain sebelumnya.

Penggunaan enzim inulinase yang dihasilkan oleh khamir inulinolitik dalam memperoleh gula rendah kalori berupa fruktosa telah banyak diteliti dan dipublikasikan sebagai literatur. Namun, belum ada literatur yang menjelaskan secara komprehensif mengenai adanya potensi isolat khamir inulinolitik pada ampas tebu dalam menghasilkan gula rendah kalori serta pengaruh penambahan ion logam terhadap aktivitas inulinase khamir tersebut. Oleh karena itu, diperlukan beberapa kajian lanjutan seperti isolat khamir inulinolitik yang diperoleh dari ampas tebu, substrat inulin dengan kandungan yang terbaik dari berbagai tanaman, serta pengaruh penambahan ion kofaktor logam yang berpotensi dalam meningkatkan aktivitas inulinolitik pada khamir yang diisolasi dari ampas tebu. Penulisan *review* ini diharapkan dapat menjadi salah satu referensi yang digunakan untuk penelitian lanjutan serta menjadi upaya dalam optimalisasi produksi gula rendah kalori dalam skala industri.

II. MATERI DAN METODE

Penulisan *review* ini dilakukan melalui beberapa tahap yaitu pencarian dan pengumpulan literatur secara *online* seperti jurnal nasional dan jurnal internasional yang mutakhir dan relevan. Beberapa kata kunci yang difokuskan dalam pencarian literatur adalah inulin, inulinase, *sugarcane bagasse yeast*, *calcium cofactor inulinase*. Setiap pencarian literatur diakhiri dengan kata "*journal pdf*". Jumlah literatur yang digunakan dalam penulisan *review* ini adalah 28 sumber jurnal yang terdiri atas 23 jurnal internasional dan 5 jurnal nasional. Hasil data yang telah dikumpulkan divalidasi dan disintesis sehingga dihasilkan *state of the art* atau kebaruaran *review*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolat Khamir yang Diperoleh dari Ampas Tebu

Mikroba penghasil inulinase merupakan mikroba yang penting dalam industri enzim. Enzim yang dihasilkan mikroba penghasil inulinase umumnya bersifat dapat diinduksi dan ekstraselular. Beberapa galur khamir dan bakteri telah dilaporkan dapat memproduksi inulinase (Singh dan Singh, 2010). Ampas tebu yang merupakan hasil samping dari industri gula yang diuji sebagai pendukung dan sumber karbon dalam memproduksi inulinase dapat digunakan sebagai sumber karbon pada khamir dalam memproduksi enzim inulinase (Mazutti *et al.*, 2006). Berdasarkan hal tersebut, khamir *indigenous* yang terdapat pada ampas tebu memiliki potensi dalam memanfaatkan sumber karbon pada ampas tebu untuk proses pertumbuhan khamir *indigenous* tersebut. Ada beberapa isolat khamir yang ditemukan pada ampas tebu yang dinyatakan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil isolat khamir dari ampas tebu (*Saccharum officinarum*)

Spesies	Sumber isolasi	Referensi
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Bagasse (ampas tebu)	Suzuki <i>et al.</i> , 2014
<i>Candida tropicalis</i>	Bagasse (ampas tebu)	Thancharoen <i>et al.</i> , 2016
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Bagasse (ampas tebu)	Osman <i>et al.</i> , 2011
<i>Cryptococcus laurentii</i>	Bagasse (ampas tebu)	Osman <i>et al.</i> , 2011
<i>Saccharomyces cereviceae</i>	Bagasse (ampas tebu)	Osman <i>et al.</i> , 2011

Berdasarkan beberapa referensi yang ditemukan, ada beberapa isolat khamir yang ditemukan pada ampas tebu seperti *Kluyveromyces marxianus* (Suzuki *et al.* 2014), *Candida tropicalis* (Thancharoen *et al.* 2016), *Debaryomyces hansenii*, *Cryptococcus laurentii*, dan *Saccharomyces cereviceae* (Osman *et al.* 2011). Namun, khamir pada ampas tebu yang dapat menghasilkan enzim inulinase adalah *Kluyveromyces marxianus*, *Candida tropicalis*, *Debaryomyces hansenii*, *Cryptococcus laurentii*. Hal ini didukung oleh Zhou (2014) yang menyatakan bahwa genera *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Yarrowia*, dan *Debaryomyces* ditemukan sebagai mikroba penghasil inulinase. *Kluyveromyces marxianus* sangat umum digunakan dalam menghasilkan enzim inulinase pada skala industri. *Kluyveromyces marxianus* DUCC-Y-003 (Yuliana *et al.*, 2014), *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus* (Santos, 2007) ditemukan dapat menghasilkan enzim inulinase. Menurut Singh (2006), genus *Kluyveromyces* diketahui memiliki aktivitas inulinase yang tinggi dalam mendegradasi substrat inulin.

Potensi Beberapa Tanaman yang Digunakan dalam Produksi Gula Rendah Kalori dengan Enzim Inulinase

Inulin yang digunakan dalam produksi gula rendah kalori dapat diperoleh dari beberapa tanaman dengan kandungan berbeda-beda. Berikut merupakan perbandingan kandungan inulin beberapa tanaman yang dinyatakan dalam Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan inulin dari beberapa tanaman

Sumber	Bagian tanaman	Kandungan inulin (% berat bersih)	Referensi
Dahlia	Umbi	9 – 12.5	Kango dan Jain, 2011
Bawang Merah	Umbi	2 – 6	Singh dan Singh, 2010
Bawang prei	Umbi	3 – 10	Singh dan Singh, 2010
Pisang	Buah	0.3 – 0.7	Kango dan Jain, 2011
Burdock	Akar	3.5 – 4	Singh dan Singh, 2010
Artichoke	Daun	3 – 10	Kango dan Jain, 2011
Gandum hitam	Biji sereal	0.5 – 1	Kangi dan Jain, 2011

Berdasarkan studi literatur kandungan inulin dari beberapa tanaman, umbi dahlia memiliki kandungan inulin sekitar 9 – 12.5 %. Persentase kandungan inulin pada umbi dahlia tergolong lebih besar dibandingkan dengan umbi yang diperoleh dari tanaman lain seperti bawang merah dan bawang prei. Sebuah studi juga melaporkan bahwa kandungan inulin pada ekstrak umbi dahlia mencapai 78.21 mg. Kandungan tersebut tergolong lebih besar dibandingkan dengan ekstrak inulin ubi yaitu 48.66 mg dan ekstrak inulin umbi gembili yaitu 67.66 mg, sehingga inulin banyak diproduksi secara komersial dari umbi dahlia karena memiliki kandungan inulin yang tinggi (Zubaidah, 2013; Yanti, 2019). Shivayoggeppa *et al.* (2010) menyatakan bahwa dahlia merupakan tanaman umbi yang mengandung senyawa inulin paling tinggi, mengandung fruktosa serta mempunyai kandungan senyawa kecil yang aktif seperti

pektin dan asam benzoat. Komponen yang terdapat di dalam medium yang digunakan untuk fermentasi dapat mempengaruhi produksi inulinase sehingga dahlia dapat menjadi sumber inulin alternatif yang tersedia menjadi substrat dalam proses fermentasi berskala besar. Selain itu, inulin yang diproduksi dari umbi dahlia tergolong murah, sedangkan inulin murni hanya tersedia dalam jumlah yang sedikit dan membutuhkan biaya yang sangat mahal (Rawat, 2015; Jain *et al.*, 2012). Penggunaan tepung umbi dahlia sebagai bahan baku inulin berpotensi dalam menghasilkan kadar fruktosa yang tinggi setelah dihidrolisis dengan enzim inulinase.

Hasil Aktivitas Enzim pada Isolat Khamir Inulinolitik Ampas Tebu dengan Penggunaan Media dari Ekstrak dan Tepung Umbi Dahlia

Galur mikroba yang umumnya digunakan untuk memproduksi inulinase adalah khamir *Kluyveromyces marxianus*. Jain *et al.* (2012) melaporkan bahwa *Kluyveromyces marxianus* memiliki aktivitas inulinolitik optimal pada pH 4.0 dengan temperatur optimal yaitu 50°C. Cazetta *et al.* (2005) juga melaporkan aktivitas inulinolitik optimal yang diperoleh *Kluyveromyces marxianus* berada pada kisaran suhu sekitar 45 hingga 60°C dengan pH 4.

Penelitian yang dilakukan oleh Jain *et al.* (2012) menunjukkan bahwa khamir *Kluyveromyces marxianus* MTCC 3995 dapat menghasilkan aktivitas inulinase tertinggi pada ekstrak inulin umbi dahlia yaitu 25.4 nKat/ml. Nilai aktivitas inulinase dengan sumber karbon tersebut tergolong lebih tinggi jika dibandingkan dengan penggunaan substrat seperti fruktosa (8,68 nKat/ml), glukosa (4,80 nKat/ml), sukrosa (9,67 nKat/ml), dan inulin murni (17,86 nKat/ml). Ekstrak umbi dahlia yang mengandung komponen fruktan pada inulin memungkinkan dapat menginduksi titer inulinase yang lebih tinggi. Penelitian tersebut menunjukkan penggunaan ekstrak umbi dahlia sebagai sumber karbon dapat meningkatkan aktivitas sekitar 1,4 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan inulin murni.

Sebuah penelitian dilakukan Yuliana *et al.* (2014) dengan menganalisis perbandingan pertumbuhan khamir *Kluyveromyces marxianus* DUCC-Y-003 pada medium ekstrak dan tepung umbi dahlia yang mengindikasikan adanya hasil dari aktivitas khamir dalam mensintesis enzim inulinase. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa pertumbuhan *Kluyveromyces marxianus* DUCC-Y-003 pada media dengan penambahan ekstrak inulin 1 gram lebih tinggi daripada pertumbuhan khamir pada media dengan penambahan tepung umbi dahlia. Adanya selektifitas media dengan sumber karbon ekstrak inulin menyebabkan peningkatan sintesis enzim inulinase pada khamir. Hal ini berbeda pada tepung umbi dahlia yang masih terkandung material lain yang dapat menurunkan nilai aktivitas enzim inulinase pada khamir tersebut.

Penggunaan inulin sebagai bahan dasar pembuatan sirup fruktosa sebaiknya menggunakan inulin yang memiliki derajat polimerisasi yang rendah. Hal itu dikarenakan inulin yang memiliki derajat polimerisasi rendah lebih mudah untuk dihidrolisis menjadi monomer-monomer fruktosa. Hal itu sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan Horiza (2017) bahwa untuk produksi sirup fruktosa sebaiknya digunakan inulin dengan derajat polimerisasi yang kecil, agar proses hidrolisis dapat berlangsung cepat. Kandungan inulin pada umbi dahlia dapat berbeda antara satu dengan yang lainnya meskipun masih termasuk spesies dan varietas yang sama. Hal tersebut dapat disebabkan oleh kondisi iklim tempat tumbuh umbi dahlia serta lama penyimpanan umbi dahlia pasca panen. Berdasarkan hasil penelitian Hidayat (2021) inulin umbi dahlia yang baru dipanen atau masih segar memiliki derajat polimerisasi yang tinggi dengan kadar fruktosa sebesar 1,02% sedangkan inulin umbi dahlia yang disimpan selama 15 hari memiliki derajat polimerisasi lebih rendah dengan kadar fruktosa sebesar 1,71%. Hal ini semakin didukung berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Horiza (2017) bahwa inulin dengan DP lebih kecil semakin banyak jumlahnya pada inulin hasil ekstraksi dari umbi dahlia disimpan 4 minggu. Semakin meningkatnya jumlah molekul dengan DP kecil pada umbi dahlia yang disimpan 4 minggu disebabkan oleh aktivitas enzim inulinase. Oleh karena itu dalam pembuatan gula rendah kalori berupa *high fructose syrup* lebih baik menggunakan inulin yang memiliki derajat polimerisasi yang rendah agar hasil yang diperoleh optimal.

Pengaruh Penambahan Kalsium sebagai Kofaktor Enzim Inulinase yang Dihasilkan Khamir *Indigenus* Ampas Tebu

Senyawa anorganik yang berperan sebagai kofaktor dapat berupa ion logam seperti Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ba^{2+} , Ni^{2+} , dan Cu^{2+} . Kofaktor yang difokuskan pada kajian literatur ini adalah Ca^{2+} dalam bentuk senyawa $CaCl_2$ (kalsium klorida) yang dapat terdisosiasi menjadi ion kalsium dan ion klorida di dalam air. Venkateshwar *et al.* (2010) menyatakan bahwa ion Ca^{2+} (kalsium) merupakan mikronutrien yang digunakan dalam persinyalan khamir penting dalam ketahanannya selama konjugasi, tekanan osmotik, fusi vakuola, siklus sel maupun ion resisten terhadap stress, sedangkan ion Cl^- (klorida) digunakan untuk membantu regulasi osmotik, mengatur kesetimbangan asam basa dari larutan, dan mengatur netralitas elektrokimia.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Singh *et al.* (2007), ion logam berpengaruh pada aktivitas inulinase. Namun hanya Mn^{2+} (0,1 mM) dan Ca^{2+} (0,5 mM) yang dapat meningkatkan produksi inulinase, sedangkan Mg^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , K^{1+} , BO_3^{3-} dan MoO_4^{2-} tidak memberikan pengaruh pada produksi inulinase. Fe^{2+} dan Ni^{2+} menunjukkan penurunan produksi inulinase. Hasil penelitian Zhang *et al.* (2005) juga menunjukkan bahwa ion logam Mn^{2+} dan Ca^{2+} dapat meningkatkan aktivitas inulinase. Nilai aktivitas inulinase dari berbagai macam ion logam dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh logam pada produksi inulinase (Singh *et al.*, 2007)

Trace elements (mM)	Aktivitas Inulinase (IU/ml)							
	0.02	0.05	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
Mg^{2+}	-	-	11.2	11.1	11.1	11.1	11.0	11.0
Fe^{2+}	8.2	8.2	8.2	7.0	4.2	2.3	1.1	0.8
Ca^{2+}	-	11.8	13.5	16.3	16.0	15.7	14.5	-
Mn^{2+}	-	14.0	15.2	15.0	14.3	13.8	11.5	10.0
Zn^{2+}	11.8	12.0	11.9	11.8	11.5	10.8	9.3	8.0
Cu^{2+}	11.8	12.0	12.0	11.9	10.7	10.3	9.8	9.2
Co^{2+}	11.8	11.7	11.8	11.8	11.0	9.0	7.5	5.4
Ni^{2+}	6.0	6.0	6.0	5.2	4.2	3.1	2.5	2.1
K^{1+}	-	-	11.8	12.0	11.7	10.1	9.0	8.00
BO_3^{3-}	-	12.0	12.0	11.0	11.0	10.4	-	-
MoO_4^{2-}	12.0	12.0	12.0	12.0	12.1	12.0	11.7	11.5

Control: 12.0 IU/ml.

Berdasarkan tabel diatas dapat kita ketahui masing-masing reaksi dari pemberian ion logam. Dari semua ion logam yang diujikan dapat diketahui bahwa ion logam Ca^{2+} pada konsentrasi 0.5 mM yang memiliki nilai aktivitas paling tinggi diantara lainnya. Ion logam yang merupakan mikronutrient dapat meningkatkan suatu laju reaksi enzimatik apabila diberikan pada konsentrasi yang sesuai. Apabila konsentrasi yang diberikan terlalu sedikit maka aktivitasnya menjadi belum maksimal, tetapi apabila diberikan dengan konsentrasi yang berlebih maka dapat menjadi penghambat reaksi enzimatik. Maisaroh *et al.* (2020) melakukan penelitian dengan memberikan berbagai perlakuan $CaCl_2$ pada komposisi pembuatan media produksi khamir inulinolitik. Perlakuan pertama menambahkan $CaCl_2$ sebanyak 0.5 mM, perlakuan kedua menambahkan $CaCl_2$ sebanyak 1.0 mM, perlakuan ketiga menambahkan $CaCl_2$ sebanyak 1.5 mM, serta tanpa penambahan $CaCl_2$ sebagai kontrol. Maisaroh *et al.* (2020) menyatakan bahwa penambahan $CaCl_2$ dengan konsentrasi 0.5 mM pada khamir dapat menghasilkan aktivitas inulinase terbaik. Konsentrasi $CaCl_2$ dapat menjadi aktivator enzim pada konsentrasi rendah. Maisaroh *et al.* (2020) menyatakan mikronutrien berupa kalsium pada konsentrasi rendah dapat menjadi stimulator enzim, sedangkan pada konsentrasi tinggi kalsium dapat menjadi inhibitor. Penambahan $CaCl_2$ yang tepat pada medium fermentasi dapat meningkatkan produksi enzim (Sivaramkrishnan, *et al.*, 2006) sehingga kalsium dapat menjadi kofaktor yang baik dalam memproduksi enzim inulinase yang dihasilkan oleh khamir inulinolitik.

Rencana Pengembangan Produksi Gula Rendah Kalori dengan Enzim Inulinase dari Khamir Indigeneous Ampas Tebu

Hasil kajian mengenai isolat khamir inulinolitik dari ampas tebu, perbandingan kandungan inulin dari beberapa tanaman, serta pengaruh penambahan ion logam terhadap aktivitas inulinase dapat menghasilkan suatu sintesis pengembangan bahwa *Kluyveromyces marxianus* yang diisolasi dari ampas tebu dapat dijadikan sebagai starter dalam proses produksi gula rendah kalori. Kandungan inulin pada umbi dahlia sebagai substrat serta dengan penambahan ion logam Ca^{2+} pada konsentrasi 0,5 mM sebagai kofaktor dapat dijadikan menjadi suatu medium yang digunakan khamir inulinolitik dari ampas tebu sehingga inovasi pengembangan tersebut dapat meningkatkan aktivitas inulinase dan kadar fruktosa. Inovasi tersebut dapat menjadi acuan optimalisasi produksi gula rendah kalori dalam skala industri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia atas pendanaan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) 5 Bidang tahun 2020. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Romario Dion dan Pragati Wira Anggini atas segala bantuannya dalam penulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Cazetta, M. L., Martins, P. M. M., Monti, R., & Contiero, J. (2005). Yacon (*Polymnia sanchifolia*) extract as a substrate to produce inulinase by *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus*. *Journal of Food Engineering*, 66(3), 301-305. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.03.022>
- Chi, Z., Zhang, T., Cao, T. S., Liu, X. Y., Cui, W., and Zhao, C. H. (2011). Biotechnological potential of inulin for bioprocess.. *Bioresource Technology*, 102(6), 4295-4303. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.086>
- Dali, S., Natsir, H. and Gusti, G. (2012). Pengaruh Senyawa Kofaktor dan Stabilitas Terhadap Aktivitas Enzim B-1, 3-Glukanase dari Isolat Bakteri Termofil *Bacillus licheniformis* HSA3-1a. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 4(2), 203-208. <https://doi.org/10.33096/jifa.v4i2.85>
- Ekpélikpézé, O.S., Agre, P., Dossou-Aminon, I., Adjatin, A., Dassou, A., and Dansi, A. (2016). Characterization of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivars of Republic of Benin. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*, 3(5), pp.147-156. <http://dx.doi.org/10.20546/ijcrbp.2016.305.023>
- Fitrania, F., & Rukmi, M. I. (2018). Produksi Inulinase dari Umbi Dahlia (*Dahlia Variabilis*) Oleh *Pichia Manshurica* Ducc Y-015 dengan Variasi Waktu Inkubasi dan Konsentrasi Glukosa Sebagai Sumber Karbon Tambahan. *Jurnal Akademika Biologi*, 7(1), 64-75.
- Garuba, E.O. and Onilude, A., (2018). Immobilization of thermostable exo-inulinase from mutant thermophilic *Aspergillus tamarii*-U4 using kaolin clay and its application in inulin hydrolysis. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), pp.341-346. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.03.009>
- Jain, S. C., Jain, P. C., & Kango, N. (2012). Production of Inulinase from *Kluyveromyces marxianus* using dahlia tuber extract. *Brazilian journal of microbiology*, 43(1), 62-69. <https://dx.doi.org/10.1590%2F1517-83822012000100007>
- Hidayat, B., Azhar, M., Iryani., Sanjaya, H. Penentuan Derajat Polimerisasi Inulin Dari Umbi Dahlia (*Dahlia* sp.) Menggunakan Metode HPLC Dengan Detektor RID. *Periodic*.10 (1). <https://doi.org/10.24036/p.v10i1.109604>
- Horiza, H., Azhar, M., & Efendi, J., 2017. Ekstraksi dan Karakterisasi Inulin dari Umbi Dahlia (*Dahlia* sp. L) Segar dan Disimpan. *Eksakta*. 18(1): 32-39. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol18-iss01/14>
- Kango, N., Jain S.C. (2011). Production and properties of microbial inulinases: Recent advances. *Food Biotechnology*, 25(3):165-212. <https://doi.org/10.1080/08905436.2011.590763>
- Ma, J.Y., Cao, H.L., Tan, H.D., Hu, X.J., Liu, W.J., Du, Y.G. and Yin, H. (2016). Cloning, expression, characterization, and mutagenesis of a thermostable exoinulinase from *Kluyveromyces cicerisporus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(1), pp.144-158. https://www.theric.org/research/tech/periodicals/doi.php?art_seq=1344546
- Maisaroh, S., Wijanarka, & Suprihadi, A. (2020). Kemampuan Memproduksi Inulinase Isolat Khamir Hasil Isolasi dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) dengan Variasi Konsentrasi. *NICHE Journal of Tropical Biology* 2020; 3(1): 1-7. <https://doi.org/10.14710/niche.3.1.1-7>
- Mazutti, M., Bender, J.P., Treichel, H. and Di Luccio, M. (2006). Optimization of Inulinase Production By Solid-State Fermentation Using Sugarcane Bagasse As Substrate. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(1), 56-59. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2005.09.008>
- Osman, M. E., Khattab, O. H., Hammad, I. A., & El-Hussieny, N. I. (2011). Optimization of bio-fuel production by *Saccharomyces cerevisiae* isolated from sugar cane bagasse. *Journal of American Science*, 7(5), 485-492. <http://www.dx.doi.org/10.7537/marsjas070511.65>
- Rawat, H. K., Chand Jain, S., & Kango, N. (2015). Production and properties of inulinase from *Penicillium* sp. NFCC 2768 grown on inulin-rich vegetal infusions. *Biocatalysis and Biotransformation*, 33(1), 61-68. <https://doi.org/10.3109/10242422.2015.1018188>

- Sandiya, A.A., Retnaningtyas, Y. and Wulandari, L. (2014). Determinasi Inulin dalam Sampel Ekstrak Umbi Dahlia (*Dahlia spp* L.) yang Ditamam pada Media Tanah dan Polybag dengan Metode KLT-Densitometri. *Pustaka Kesehatan*, 2(2), pp.199-204.
- Santos, A.M. and Maugeri, F. (2007). Synthesis of fructooligosaccharides from sucrose using inulinase from *Kluyveromyces marxianus*. *Food Technology and Biotechnology*, 45(2), 181-186. <http://dx.doi.org/10.1089/ind.2010.6.288>
- Shivayogeppa, G., Adiga, J., Prabhuling, G., Reddy, B.S., Sathyanarayana, B.N.. (2010). In vitro approaches for conservation of dahlia (*Dahlia variabilis* L.). *Acta Horticulturae*. 865. 387-391. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.865.57>
- Singh, P. and Gill, P.K. (2006). Production of Inulinase : Recent Advances. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2) : 151-162. <https://doi.org/10.17113/ftb>
- Singh, R.S., Sooch, B.S. and Puri, M., (2007). Optimization of medium and process parameters for the production of inulinase from a newly isolated *Kluyveromyces marxianus* YS-1. *Bioresource technology*, 98(13), 2518-2525. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.011>
- Singh, R.S. and Singh, R.P., (2010). Production of fructooligosaccharides from inulin by endoinulinases and their prebiotic potential. *Food Technology and Biotechnology*, 48(4), 435.
- Sivaramakrishnan, S., Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2006). α -Amylases from microbial sources—an overview on recent developments. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 173-184.
- Suzuki, T., Hoshino, T., & Matsushika, A. (2014). Draft genome sequence of *Kluyveromyces marxianus* strain DMB1, isolated from sugarcane bagasse hydrolysate. *Genome announcements*, 2(4), 1-2. <http://dx.doi.org/10.1128/genomeA.00733-14>
- Thancharoen, K., Deeseenthum, S., & Vichitphan, K. (2016). Potential of xylose-fermented yeast isolated from sugarcane bagasse waste for xylitol production using hydrolysate as carbon source. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 38(5). <http://dx.doi.org/10.14456/sjst-psu.2016.63>
- Venkateshwar, M., K. Chaitanya, Md. A., Mahammad E. J., Hameeda B., and Gopal R. (2010). Influence of Micronutrients on Yeast Growth and β -D-Fructofuranosidase Production. *Indian Journal of Microbiology*. 50 (1): 325-331. <http://dx.doi.org/10.1007/s12088-010-0005-1>
- Yanti, I.G., Azhar, M., Faridah, A. and Oktavia, B. (2019). Simple Determination of Inulin Polymerization Degree Average from Dahlia Tuber Using Spectrophotometer. *International Journal of Research*, 6(8), 399-408.
- Yuliana, R., Kusdiyantini, E. and Izzati, M. (2014). Potensi Tepung Umbi Dahlia Dan Ekstrak Inulin Dahlia Sebagai Sumber Karbon Dalam Produksi Fruktooligosakarida (FOS) Oleh Khamir *Kluyveromyces marxianus* DUCC-Y-003. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 16(1), 39-49. <https://doi.org/10.14710/bioma.16.1.39-49>
- Zhang, L., Zhao, C., Ohta, W.Y. and Wang, Y. (2005). Inhibition of glucose on an exoinulinase from *Kluyveromyces marxianus* expressed in *Pichia pastoris*. *Process Biochemistry*, 40(5), 1541-1545. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2004.01.057>
- Zhou, H.X., Xin, F.H., Chi, Z., Liu, G.L. and Chi, Z.M., (2014). Inulinase production by the yeast *Kluyveromyces marxianus* with the disrupted MIG1 gene and the over-expressed inulinase gene. *Process Biochemistry*, 49(11),1867-1874. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10224-3>
- Zubaidah, E., & Akhadiana, W. (2013). Comparative Study of Inulin Extracts from Dahlia, Yam, and Gembili Tubers as Prebiotic. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 4(11), 8–12. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2013.411A002>