

Pemanfaatan Limbah Cair Tepung Beras Kaya Protein untuk Produksi Enzim Amiloglukosidase dan Gula Cair

Endang Y. Purwani dan Narta

Balai Penelitian Tanaman Padi, Sukamandi

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mempelajari pengaruh penambahan limbah cair tepung beras kaya protein (BKP) terhadap pertumbuhan kapang *Aspergillus* sp. dan aktivitas enzim amiloglukosidase yang dihasilkan, dan (2) mempelajari karakteristik gula cair yang dihasilkan dari limbah cair tepung BKP. Enzim amiloglukosidase diproduksi dengan cara menumbuhkan *A. niger* dan *Aspergillus* sp. KT-11 pada media yang ditambah limbah cair tepung BKP dengan tingkat penambahan 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; dan 12,5 ml per 100 ml media. Sebagai kontrol digunakan media yang ditambah pati singkong 5,0%. Untuk memproduksi gula cair, limbah cair tepung BKP dihidrolisis, baik dengan enzim yang dihasilkan pada percobaan sebelumnya maupun dengan enzim komersial. Enzim amiloglukosidase dan gula cair yang dihasilkan pada percobaan ini dianalisis beberapa sifat pentingnya. Hasil percobaan menunjukkan bahwa penambahan limbah cair tepung BKP meningkatkan pertumbuhan sel kapang *A. niger* dan *Aspergillus* sp. KT-11. Biomassa yang dihasilkan meningkat dari 0,1554 menjadi 0,5549 mg/100 ml media dan dari 0,1654 menjadi 0,5983 mg/100 ml media masing-masing untuk *A. niger* dan *Aspergillus* sp. KT-11. Sementara itu, media yang ditambah pati singkong menghasilkan biomassa sebesar 0,4370 dan 0,7054 mg/100 ml media berturut-turut untuk *A. niger* dan *Aspergillus* sp. KT-11. Namun demikian, peningkatan jumlah biomassa ternyata tidak selalu diikuti oleh peningkatan aktivitas enzim amiloglukosidase yang dihasilkan. Aktivitas enzim maksimum diperoleh pada media yang ditambah 7,5 limbah cair tepung BKP, yakni sebesar 13517 dan 21839 unit/ml berturut-turut untuk *A. niger* dan *Aspergillus* sp. KT-11. Kondisi optimum untuk aktivitas enzim yang dihasilkan adalah pada pH 4,2 dan suhu 40°C. Enzim kasar yang dihasilkan pada percobaan ini ternyata tidak dapat digunakan secara langsung untuk memproduksi gula cair. Oleh karenanya, produksi gula cair hanya dilakukan dengan menggunakan enzim komersial. Penambahan 0,1 ml enzim amiloglukosidase per 100 ml limbah cair tepung BKP menghasilkan gula cair dengan mutu yang cukup baik. Gula cair yang dihasilkan mengandung glukosa 42,88%, bahan kering 47,18%, abu 0,43% dan ekivalen dekstrosa 95%, serta kenampakan yang jernih.

Kata kunci: Enzim amiloglukosidase, protein, limbah cair, tepung beras, gula cair.

ABSTRACT

The objective of the research was: (1) to study the effect of high protein liquid waste of rice flour (BKP) to *Aspergillus* sp. growth and amiloglukosidase enzyme activity, and (2) to study the characteristics of the liquid sugar produced from BKP. The amiloglukosidase enzyme was produced by growing *A. niger* and *Aspergillus* sp. KT-11 on the medium added with the liquid waste of BKP at the rate of 2.5, 5.0, 7.5, and 12.5 ml per 100 ml medium. As a control was the medium added with tapioca 5.0%. To produce the liquid sugar, the liquid waste of BKP was hydrolized, both with the enzyme produced prior to it or with commercial enzyme. The amiloglukosidase enzyme and the liquid sugar were then characterized to find out their important characteristics. The research results showed that the addition of the BKP liquid waste increases *A. niger* and *Aspergillus* sp. KT-11

growth. Their biomass increase from 0.1554 to 0.5549 mg/100 ml medium and from 0.1654 to 5983 mg/100 ml medium respectively for *A. niger* and *Aspergillus* sp. KT-11. On the other hand, the medium added with tapioca produced the biomass 0.4370 and 0.7054 mg/100 ml medium respectively for *A. niger* and *Aspergillus* sp. KT-11. However, the increase in the number of biomass was not always followed with the increase in the amiloglukosidase enzyme activity. The maximum enzyme activity was found in the medium added with 7.5 ml of BKP liquid waste, i.e 13,517 and 21,839 units/ml respectively for *A. niger* and *Aspergillus* sp. KT-11. The optimum condition for enzyme activity was pH 4.2 and temperature 40°C. The rough enzyme produced in this experiment could not be immediately used for producing liquid sugar. Therefore, liquid sugar was only produced with commercial enzyme. The addition of 0.1 ml amiloglukosidase enzyme per 100 ml BKP liquid waste produced liquid sugar with moderately good quality. The liquid sugar contains 42.88% glucose, 47.18% dried material, and 0.43% ash. Its equivalent dextrose was 95%, and its performance was clear.

Key words: Amiloglukosidase enzyme, protein, liquid waste, rice flour, liquid sugar.

PENDAHULUAN

Teknologi produksi tepung beras kaya protein (BKP) telah berhasil dikembangkan oleh Balai Penelitian Tanaman Pangan Sukamandi (sekarang Balai Penelitian Tanaman Padi) dan dapat dijadikan alternatif sumber protein untuk masyarakat pedesaan (Munarso, 1989; Thenawidjaja *et al.*, 1990; Purwani *et al.*, 1991; Damardjati *et al.*, 1992; Damardjati *et al.*, 1992). Dalam proses pembuatan tepung BKP tersebut terdapat hasil samping yang berupa cairan dengan kadar maltosa dan glukosa cukup tinggi, masing-masing sekitar 13-22 dan 9-13 mg/ml (Purwani *et al.*, 1994). Tanpa penanganan yang memadai hasil samping tersebut akan menimbulkan pencemaran lingkungan.

Produksi gula di Indonesia saat ini belum dapat memenuhi kebutuhan dalam negeri. Pengolahan lebih lanjut limbah cair tepung BKP menjadi sirup glukosa (gula cair) saja akan dapat membantu memenuhi kebutuhan gula, di samping menekan pencemaran dan memberi nilai tambah limbah.

Untuk membuat gula cair diperlukan enzim amiloglukosidase. Enzim ini dapat diproduksi dengan membiakkan mikroba penghasil enzim dalam media tertentu kemudian diekstrak. Penumbuhan kapang *Aspergillus* sp. pada media cair (*submerged culture*) merupakan salah satu cara untuk memproduksi enzim amiloglukosidase. Produksi enzim yang tinggi dapat diperoleh dengan membuat kondisi optimum pertumbuhan kapang yang bersangkutan. Hal ini dapat dicapai dengan mengatur komposisi media dan kondisi lingkungannya (pH, suhu, dan waktu inkubasi). Sedangkan aplikasinya terhadap produksi gula cair dapat diterapkan berdasarkan tingkat aktivitas enzim.

Penelitian bertujuan untuk: (1) mempelajari kondisi optimum pertumbuhan kapang pada substrat yang mengandung limbah cair tepung BKP untuk menghasilkan enzim amiloglukosidase, (2) mempelajari karakteristik enzim amiloglukosidase yang dihasilkan, dan (3) mempelajari karakteristik gula cair.

BAHAN DAN METODE

Mikroorganisme

Kapang yang digunakan untuk memproduksi enzim terdiri dari *Aspergillus niger* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan IPB dan *Aspergillus* sp. KT-11 yang diperoleh dari Puslitbang Bioteknologi-LIPI, Cibinong.

Persiapan Inokulum

Inokulum disiapkan menurut cara yang dilakukan oleh Meliawati *et al.*, 1995. Garis besar cara penyiapan inokulum disajikan pada Gambar 1.

Produksi Enzim Amiloglukosidase

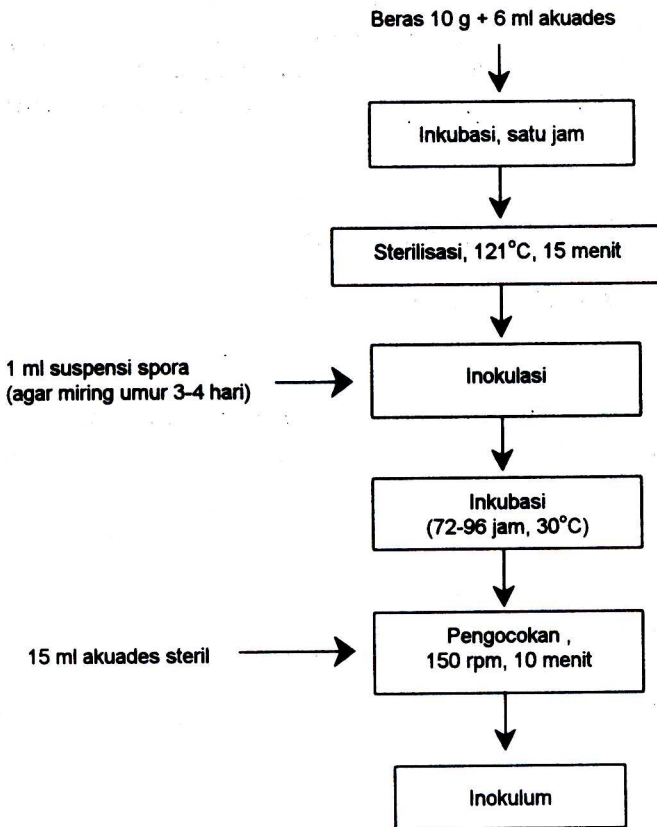
Enzim diproduksi pada kultur kocok dengan menggunakan labu erlenmeyer yang diisi 100 ml medium. Medium mengandung $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,3%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1%, KH_2PO_4 0,1% dan sumber karbon bervariasi tergantung pada perlakuan yang diterapkan. Sumber karbon yang diuji pada penelitian ini meliputi pati singkong 5% (sebagai pembanding), cairan BKP 2,5; 5,0; 7,5; 10; dan 12,5%. Bahan-bahan tersebut kemudian disterilisasi selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Medium diinokulasi dengan 4% spora, dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 40°C .

Enzim diekstrak dengan cara memisahkan biomasanya melalui cara penyaringan dengan kertas saring Whatman No 1. Filtrat yang diperoleh dianggap sebagai contoh enzim kasar.

Produksi Gula Cair

Bahan berupa cairan hasil samping produksi tepung BKP dididihkan selama lima menit, kemudian diatur keasamannya hingga pH 4,5 dengan HCl 0,5N. Pada suspensi tersebut ditambahkan enzim amiloglukosidase, disakarifikasi dengan menggunakan inkubator bergoyang selama 96 jam.

Hasil sakarifikasi dipanaskan pada suhu $90-100^\circ\text{C}$ selama lima menit, kemudian diturunkan hingga suhu 80°C serta dipucatkan selama satu jam dengan arang aktif (1,5%). Larutan disaring dengan penyaring vakum, selanjutnya dipekatkan serta disentrifugasi (3.000 rpm, lima menit).



Gambar 1. Persiapan inokulum.

Analisis

Analisis yang dilakukan pada tahap produksi enzim meliputi biomassa (dinyatakan dalam g/100 ml medium), kadar protein terlarut (ditentukan dengan metode Lowry) dan aktivitas enzim. Aktivitas enzim diuji dengan cara berikut. Setengah ml larutan pati 0,5% dicampur dengan 0,4 ml buffer asetat 0,1 M, pH 4 dan ditambah 0,1 ml larutan enzim, kemudian diinkubasi pada suhu 40°C selama 30 menit. Reaksi enzimatis dihentikan dengan cara mencelupkan larutan dalam air mendidih selama lima menit. Hasil reaksi enzimatis yang berupa glukosa selanjutnya ditentukan dengan metode Nelson-Somogy. Kandungan gula pereduksi dalam ekstrak enzim dianalisis secara terpisah untuk mengoreksi jumlah gula pereduksi pada reaksi enzimatis. Unit aktivitas enzim setara dengan banyaknya gula pereduksi dalam μg per ml yang terbentuk dari pati pada kondisi di atas.

Sifat gula cair yang dianalisis adalah gula pereduksi (metode Nelson-Somogy), total padatan kering (metode oven), ekivalen dekstrosa, kadar abu dan kejernihannya (dengan menghitung nilai transmisi cahaya sampel pada panjang gelombang 585nm).

HASIL DAN PEMBAHASAN

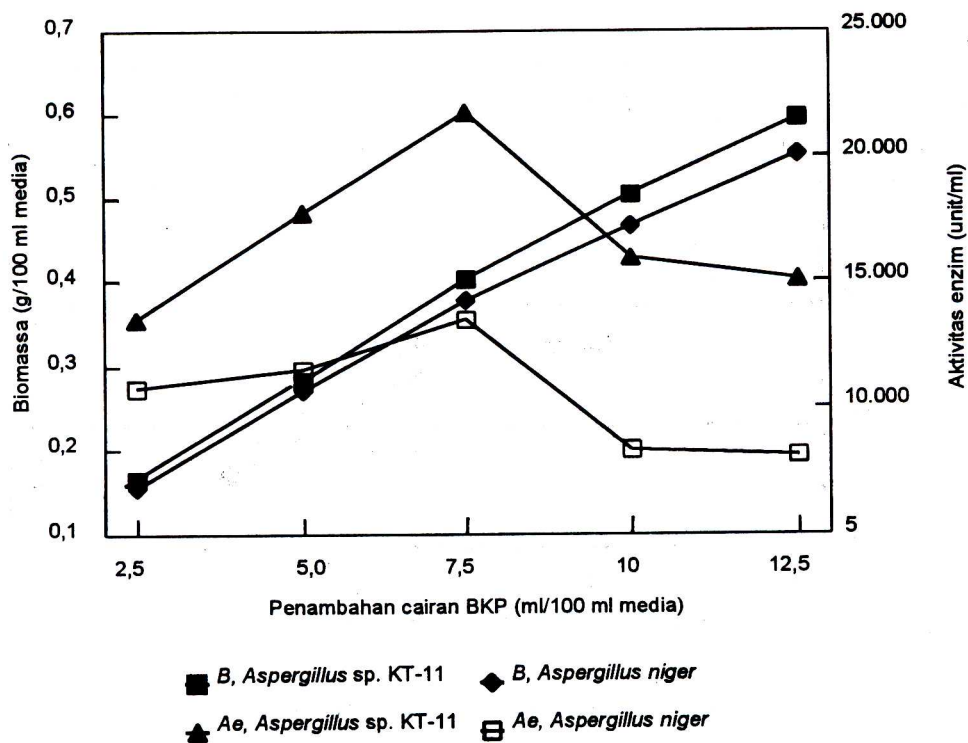
Enzim Amiloglukosidase

Penambahan cairan BKP ternyata meningkatkan pertumbuhan sel (biomassa) kapang *Aspergillus* sp. KT-11 dan *A. niger*. Pertumbuhan sel kapang dalam medium yang mengandung cairan BKP masih lebih rendah dibanding sel yang tumbuh pada medium yang mengandung tapioka. Pada medium yang mengandung tapioka, biomassa dari kedua kapang tersebut mencapai berturut-turut 0,7054 g dan 0,4370 g per 100 ml medium.

Peningkatan pertumbuhan sel ternyata tidak sepenuhnya diikuti oleh peningkatan aktivitas enzim yang dihasilkannya. Penambahan cairan BKP hingga 7,5 ml/100 ml medium mampu meningkatkan aktivitas amiloglukosidase. Penambahan cairan BKP lebih banyak lagi justru menurunkan aktivitas amiloglukosidasenya. Kejadian ini konsisten pada kedua jenis kapang yang diuji. Cairan BKP mengandung maltosa, yang merupakan inducer bagi kapang dalam mensintesa enzim. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pada jumlah tertentu maltosa dapat meningkatkan laju pertumbuhan sel mikroba dan sintesa enzim oleh mikroba (Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, 1987). Pertumbuhan sel kapang dan aktivitas enzim amiloglukosidase yang dihasilkan oleh *Aspergillus* sp. yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung cairan BKP disajikan dalam Gambar 2.

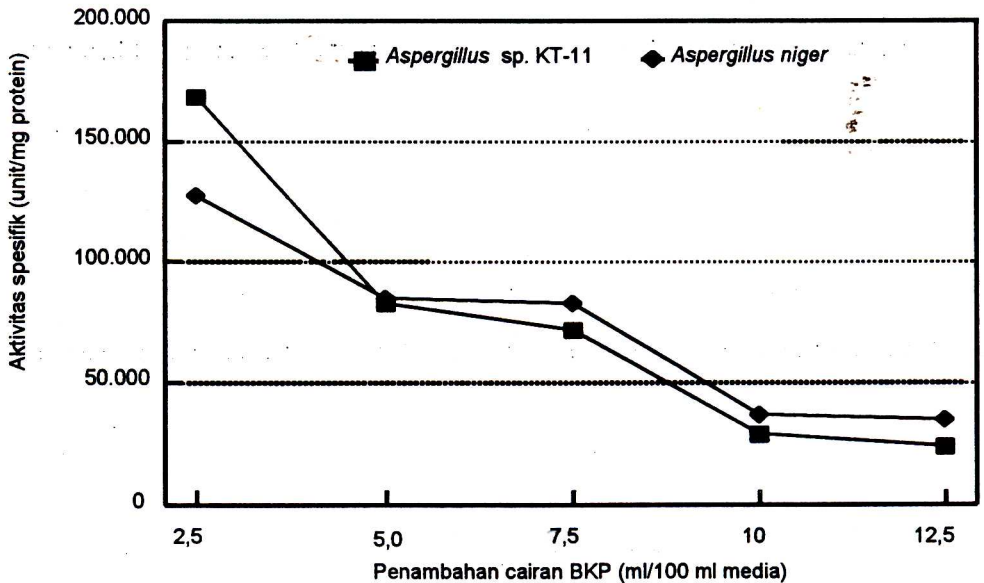
Pada media yang mengandung tapioka aktivitas enzim amiloglukosidase dari *Aspergillus* sp. KT-11 dan *A. niger* hanya sekitar 6.000 unit/ml. Dengan metode pengujian yang sama, enzim amiloglukosidase komersial dari NOVO (AMG 300L) memiliki aktivitas 151.285 unit/ml.

Aktivitas enzim yang dihasilkan pada penelitian ini lebih rendah dibanding laporan Melliawati *et al.* (1995) yang menyatakan bahwa *Aspergillus* sp. KT-11 mampu menghasilkan enzim amiloglukosidase dengan aktivitas antara 10.000 unit/ml hingga 30.000 unit/ml. Melliawati *et al.* (1995) menguji aktivitas enzim pada suhu 60°C. Selain itu, Melliawati *et al.* (1995) juga melakukan filtrasi membran dengan pori-pori 0,45 μm . Pemurnian yang dilakukan diduga merupakan penyebab perbedaan hasil dan kondisi optimum aktivitas enzim tersebut.



Gambar 2. Pertumbuhan sel dan aktivitas enzim amiloglukosidase.

Enzim pada dasarnya adalah protein. Adakalanya enzim perlu disimpan dalam keadaan kering. Bila enzim ingin dikeringkan, maka informasi mengenai aktivitas spesifiknya sangat diperlukan agar proses menjadi lebih efisien. Ekstrak enzim yang akan dikeringkan (umumnya dengan *freeze dryer*) haruslah memiliki aktivitas spesifik (unit aktivitas/mg protein) tinggi. Berdasarkan kriteria tersebut, aktivitas spesifik enzim amiloglukosidase maksimum dihasilkan oleh kapang yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung cairan BKP 2,5 ml/100 ml medium (Gambar 3). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa aktivitas spesifik enzim amiloglukosidase yang dihasilkan oleh kapang *Aspergillus* sp. KT-11 dan *A. niger* tidak berbeda nyata. Bila kedua kapang tersebut ditumbuhkan pada media yang mengandung tapioka (kontrol) enzim amiloglukosidase yang dihasilkannya memiliki aktivitas spesifik kurang dari 15.000 unit/mg protein.



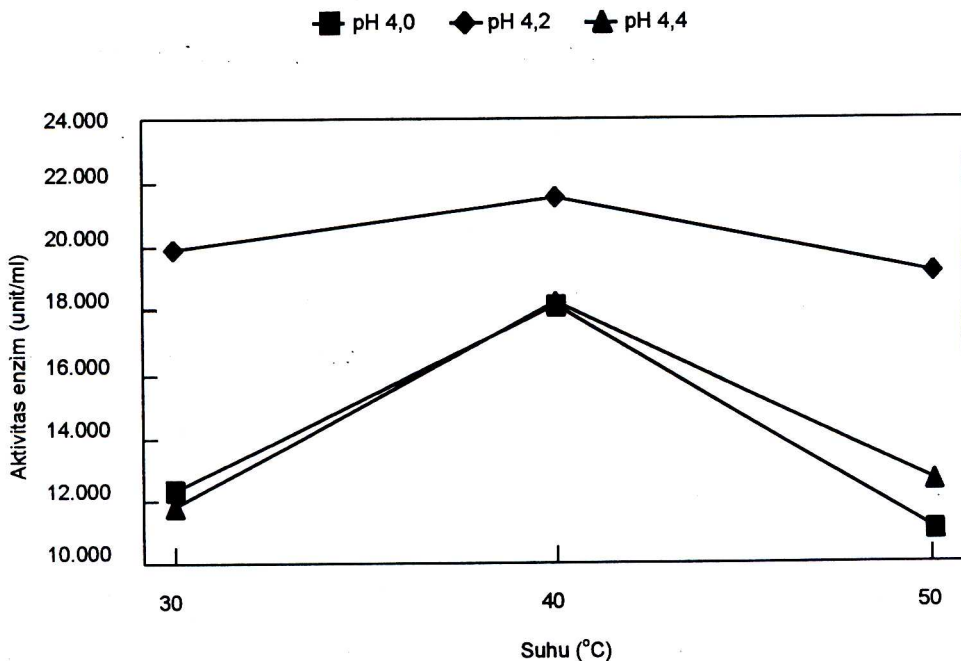
Gambar 3. Aktivitas spesifik enzim amiloglukosidase.

Enzim amiloglukosidase yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki aktivitas maksimum pada suhu 40°C dan pH 4,2 (Gambar 4). Hasil ini agak berbeda dengan laporan Meliawati *et al.* (1995) yang menyatakan bahwa enzim amiloglukosidase dari *Aspergillus sp. KT-11* memiliki aktivitas maksimum pada suhu 60°C dan pH 4,8.

Sirup Glukosa

Sirup glukosa dibuat dari cairan BKP dengan menambahkan enzim amiloglukosidase. Hasil penelitian (dengan *trial and error*) menunjukkan bahwa, enzim yang diproduksi sendiri belum bisa secara langsung digunakan untuk memproduksi sirup. Oleh karena itu, untuk menghasilkan sirup glukosa dipergunakan enzim komersial dari NOVO (AMG 300 L).

Tingkat mutu sirup glukosa terutama ditentukan oleh kadar glukosa, bahan kering, ekivalen dekstroza, abu dan kejernihannya. Sirup glukosa yang baik adalah yang mempunyai nilai ekivalen dekstroza setinggi mungkin, kadar abu serendah mungkin dan warna bening dan jernih. Dengan menambahkan enzim sebanyak 0,10 ml per 100 ml cairan BKP dapat dihasilkan sirup yang kualitasnya cukup baik (Tabel 1).



Gambar 4. Aktivitas enzim amiloglukosidase pada berbagai pH dan suhu.

Kadar glukosa dan bahan kering pada sirup beras ini lebih rendah dibanding kadar glukosa dan bahan kering yang ada pada sirup glukosa dari tepung talas, yakni sekitar 50-70% dan 70-80% (Said *et al.*, 1994). Kadar abu sirup glukosa beras ini lebih besar dibanding kadar abu sirup glukosa dari talas (kurang dari 0,1%). Ditinjau dari nilai ekivalen dekstrosa, sirup beras lebih unggul dibanding dengan sirup dari tepung talas (nilai ekivalen dekstrosa sekitar 70-90%). Penampakan sirup juga jernih yang ditunjukkan oleh tingginya nilai transmisi pada panjang gelombang 585 nm, yaitu sekitar 94%.

Tabel 1. Sifat sirup glukosa beras.

Komponen	Kadar (%)
Glukosa	42,88
Bahan kering	47,18
Abu	0,43
Ekivalen dekstrosa	95,62

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tampak bahwa sebenarnya limbah cair pada produksi tepung BKP sangat potensial untuk diolah lebih lanjut menjadi gula cair. Proses pembuatan gula cair relatif sederhana dan masih mungkin dilaksanakan secara bersamaan pada saat produksi tepung beras kaya protein (BKP). Enzim amiloglukosidase dapat dibeli dan jumlah yang diperlukan sedikit. Proses ini tentunya akan memberi berbagai keuntungan seperti memberi nilai tambah pada limbah, dan dapat mengurangi pencemaran lingkungan.

Pemanfaatan limbah untuk produksi enzim dirasakan kurang menguntungkan karena enzim kasar yang dihasilkan tidak dapat langsung diterapkan untuk memproduksi gula. Pemurnian enzim memerlukan teknologi tinggi. Mengingat sasaran utama pengembangan industri tepung beras kaya protein (BKP) adalah industri kecil atau menengah, maka tidak layak bila proses pemurnian enzim dilakukan oleh industri yang mengolah tepung BKP.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Cairan BKP dapat digunakan sebagai inducer dalam memproduksi enzim amiloglukosidase oleh kapang *Aspergillus* sp. KT-11 atau *A. niger*. Untuk itu, cairan BKP dapat ditambahkan pada medium sebanyak 2,5 ml atau 7,5 ml per 100 ml medium. Meskipun demikian enzim tersebut tidak dapat langsung digunakan untuk memproduksi gula cair dari limbah cair produksi tepung BKP. Limbah cair produksi tepung BKP dapat diolah menjadi sirup glukosa beras dengan bantuan enzim amiloglukosidase komersial yang aktivitasnya mencapai lebih dari 150.000 unit/ml. Dengan demikian, produksi enzim amiloglukosidase dan gula cair tidak dapat dilakukan secara simultan.

Saran

Penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk menentukan teknik yang paling optimal dalam memproduksi gula cair dari limbah cair produksi tepung BKP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr. Kamidjo, Sdr. Otong Heryanto dan Sdr. Budi Priyanta atas bantuannya dalam melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Damardjati, S.D., E.Y. Purwani, dan K.D. Meihira. 1992a.** Pengembangan model agroindustri tepung beras kaya protein (BKP1. Analisis prospektif produksi tepung beras kaya protein secara *scale-up*). Laporan Penelitian. Balittan Sukamandi.
- Damardjati, S.D., E.Y. Purwani, dan K.D. Meihira. 1992b.** Penelitian pengembangan model agroindustri tepung beras kaya protein (BKP2). Perencanaan prototipe sistem produksi dan pemanfaatan tepung BKP. Laporan Penelitian. Balittan Sukamandi.
- Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. 1987.** Isolasi dan karakterisasi enzim dari *Aspergillus niger* serta pemanfaatan dalam industri gula cair. Laporan Kontrak Penelitian No. 66/PSSR/DPPPM/621/1985. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Depdikbud.
- Melliawati, R., N. Rosalinda dan E. Sukara. 1995.** Pengaruh penambahan magnesium sulfat dan kalium dihidrogen fosfat terhadap produksi enzim amiloglukosidase dari *Aspergillus* sp. KT-11 pada media pati singkong. Jurnal Mikrobiologi Indonesia 3(1): 20-26.
- Munarso, S.J. 1989.** Produksi amilase dari kapang *Aspergillus awamori* var *kawachi* pada substrat dedak untuk tepung beras kaya protein. Thesis. Fakultas Pasca Sarjana, IPB. Bogor.
- Purwani, E.Y., D.S. Damardjati, dan E. Rohaeti. 1991.** Sifat fisiko-kimia dan gizi campuran tepung beras kaya protein dengan tepung kacang hijau atau gude. Media Penelitian Sukamandi, 10: 24-31.
- Purwani, E.Y., D.S. Damardjati, dan E. Susetyono. 1994.** Pemanfaatan enzim amilase untuk produksi tepung kaya protein dari beras, jagung dan sorghum. dalam Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan. Peranan mikrobiologi dalam industri pangan. Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, Cabang Bogor.
- Said, E.G., A.M. Fauzi, dan E. Subakti. 1994.** Studi produksi sirup glukosa dari tepung talas (*Colocasia esculenta* (L) Schoot). J. Teknol. Ind. Pert. 4(3): 36-41.
- Thenawidjaja, M., T.M. Hartanto, D.S. Damardjati, and Suliantari. 1990.** The implementation of rural biotechnology in the production of high protein rice flour. Australian J. of Biotechnology. 4(1): 26-33.