

Uji Kemampuan Produksi *Fruktooligosakarida* (FOS) dari Kelompok *Aspergillus niger* DUCC

Whinarsih, Arina Tri Lunggani dan Isworo Rukmi

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang, Semarang 50275

Telepon (024) 7474754; Fax. (024) 76480690

Email: wie_wien89@yahoo.co.id

Abstract

Prebiotic is a food supplement that can not be digested in the human's gut, it can stimulate the growth of beneficial microorganisms in the intestine and improve human's health. FOS is a fructan type of oligosaccharide which is have a potential as a natural prebiotic, it can be produced by several microorganisms, including *A. niger* group. The aim of this research was to examined the FOS production of three isolates of *A. niger* group from DUCC collection (i.e. DUCC F123, DUCC F129 and DUCC F102). FOS production was determined by measuring the reducing sugar using DNS method. The result showed that all isolates have the capability in producing FOS suspected kestose with the degree of polymerization 3.545; 3.215; 3.049 respectively.

Keywords: FOS, fructosyltransferase, Aspergillus niger, prebiotic

Abstract

Prebiotik adalah suplemen pangan yang tidak dapat dicerna di dalam usus manusia yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikroorganisme menguntungkan di dalam usus dan mampu meningkatkan kesehatan inang. FOS merupakan oligosakarida tipe fruktan yang berpotensi sebagai prebiotik alami, yang dapat dihasilkan oleh mikroorganisme, salah satunya adalah *A. niger*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan 3 isolat dari kelompok *A. niger* koleksi DUCC (DUCC F123, DUCC F129 dan DUCC F102) dalam menghasilkan FOS. Produksi FOS ditentukan dengan mengukur gula pereduksi dengan metode DNS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolate mampu menghasilkan FOS yang diduga adalah kestosa dengan derajat polimerisasi berturut-turut 3,545; 3,215; 3,049.

Kata kunci: FOS, fructosyltransferase, Aspergillus niger, prebiotik

PENDAHULUAN

Fenomena munculnya beragam penyakit degeneratif dalam masyarakat umumnya dilatar belakangi oleh konsumsi makanan dan dari pola hidup yang tidak sehat. Hampir 80 % penyakit degeneratif yang diderita masyarakat, berawal dari pencernaan yang tidak sehat. Berdasarkan fenomena tersebut, muncul konsep probiotik dan prebiotik, yang merupakan dua mekanisme alternatif untuk modulasi pertumbuhan mikrobiota selektif dalam kolon ke arah yang menguntungkan bagi kesehatan hospes. Kesadaran masyarakat terhadap kesehatan semakin meningkat pada tahun-tahun terakhir ini. Hal tersebut diimbangi oleh produsen makanan dan minuman dengan memproduksi jenis produk makanan atau

minuman yang mengandung senyawa prebiotik yaitu suatu senyawa yang bisa menyebabkan peningkatan populasi bakteri yang menguntungkan dalam saluran pencernaan.

Berbagai bahan organik telah dikenal berfungsi sebagai prebiotik, diantaranya adalah fruktooligosakarida (FOS), jenis karbohidrat ini tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan di dalam tubuh yang merupakan nutrien selektif untuk pertumbuhan mikrobiota menguntungkan di dalam kolon dan potensial dalam meningkatkan efektifitas produk probiotik (Santos & Maugeri, 2007).

FOS merupakan komponen pangan fungsional yang digunakan sebagai pemanis alternatif. FOS memiliki karakteristik rendah

kalori, non karsinogenik, aman untuk penderita diabetes dan bisa untuk menstimulasi pertumbuhan mikroflora usus yang menguntungkan bagi kesehatan seperti *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* (Dorta *et al.*, 2006).

Keuntungan dan keamanan FOS bagi kesehatan sudah banyak dilaporkan. Fruktooligosakarida secara alami terdapat pada buah, sayur, dan madu, selain itu juga dapat disintesis oleh kapang penghasil enzim fruktosiltransferase (FTase, E.C. 2.4.1.9) dari substrat sukrosa antara lain *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* dan *Aureobasidium sp.* (Sangeeta *et al.*, 2004). Menurut Antosova *et al.* (2001) dalam Antosova *et al.* (2002) kebutuhan FOS untuk industri makanan dan minuman dapat diatasi salah satunya dengan eksplorasi kapang penghasil enzim fruktosiltransferase yang mampu mensintesis FOS dari substrat sukrosa, misalnya *A. japonicus*, *A. niger*, dan *Aureobasidium pullulans*.

Diponegoro University Culture Collection (DUCC) memiliki koleksi kapang kelompok *Aspergillus niger* yang belum diketahui kemampuannya dalam mensintesis FOS, sehingga perlu dilakukan pengujian. Uji kemampuan produksi FOS secara kualitatif dapat diamati berdasarkan nilai derajat polimerisasi (DP) (Yun & Song, 1999).

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang diperlukan untuk penelitian berupa kultur kapang kelompok *A. niger* koleksi DUCC sebanyak 3 kultur yaitu DUCC F123, DUCC F129, dan DUCC F102, alkohol 70%, sukrosa, yeast extract, NaNO₃, K₂HPO₄, MgSO₄, H₂O, KCL, Malt Ekstrakt Agar (MEA), akuades steril, buffer sodium asetat pH 5, pH stik, reagen DNS, fenol 5 %, dan H₂SO₄.

Penyiapan Inokulum

Inokulum disiapkan sebanyak 1×10^7 konidia/ml dari kultur yang diinokulasikan pada medium MEA, diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari (Sanchez *et al.*, 2008).

Produksi FOS

Produksi FOS dilakukan dalam labu erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml medium cair dengan komposisi sukrosa 11%; K₂HPO₄ 0,84%; MgSO₄.7H₂O 0,102%; KCl 0,088%; FeSO₄.7H₂O 0,007%; NaNO₃.4H₂O 0,085%; yeast ekstrak 2,0%; CaCO₃ 0,136%; pH 5,5 (Hernandez, 2004 dalam Sanchez *et al.*, 2008), diinokulasi inoculum sebanyak 1 ml, diinkubasi di atas *rotary shaker* 150 rpm selama 48 jam pada suhu ruang (Dhake & Patil, 2006).

Pengukuran Aktivitas Fruktosiltransferase

Aktivitas fruktosiltransferase dianalisis dengan metode dinitro salicylic acid (DNS) (Miller, 1959 dalam Dhake & Patil, 2007; Santos & Maugeri, 2007). Aktivitas enzim dihitung dengan menggunakan rumus (Wijanarka *dkk.*, 2008).

Pengukuran Kadar Gula Reduksi pada Medium

Kadar gula reduksi diukur dengan metode DNS (Chaplin & Kennedy, 1994). Pengukuran kadar gula reduksi ditentukan dengan rumus yang diperoleh berdasarkan persamaan regresi kurva standar fruktosa (Wijanarka *dkk.*, 2006).

Pengukuran Total Gula pada Medium

Total gula diukur dengan metode fenol, kerapatan optis diukur dengan spektrofotometer 480 nm. Kurva regresi standar glukosa dibuat menurut Wijanarka *dkk.*, (2006).

Penentuan Nilai Dekstrosa Ekuivalen (DE) dan Derajat Polimerisasi (DP)

FOS yang terbentuk dapat ditentukan dengan mengukur derajat polimerisasi (DP) (Yun & Song, 1999).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian semua kultur yang diuji mampu menghasilkan FOS yang diduga adalah kestosa (GF₂, DP 3). Asumsi ini berdasarkan atas nilai DP yang diperoleh yaitu 3,049; 3,215; 3,545

Tabel. 1. Nilai Gula Pereduksi, Nilai gula total, dan Derajat Polimerisasi dari Kultur Kelompok *A. niger* DUCC pada Medium Produksi FOS inkubasi 48 jam pada Suhu Ruang

Kultur <i>A. niger</i> DUCC	Nilai gula pereduksi (mg/ml)	Nilai gula total (mg/ml)	Derajat Polimerisasi (DP)
F123	1,195 ^a	4,234 ^a	3,545
F129	1,120 ^a	3,595 ^b	3,215
F102	1,172 ^a	3,569 ^b	3,049

Keterangan: Angka dengan superscript yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak ada perbedaan nyata

Hasil analisis ragam terhadap nilai gula pereduksi yang dihasilkan memperlihatkan bahwa tidak ada perbedaan nyata antar kultur ($P > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa nilai gula pereduksi yang dihasilkan pada penelitian ini sama besar, yang berarti ketiga kultur memiliki kemampuan yang hampir sama dalam menghasilkan gula pereduksi, sedangkan dalam menghasilkan total gula memperlihatkan bahwa kultur DUCC F123 berbeda nyata dengan kultur DUCC F129 dan DUCC F102 ($P < 0,05$), kultur DUCC F129 sama dengan kultur DUCC F102 ($P > 0,05$) (Tabel.1.). Uji lanjut Duncan pada $\alpha = 0,05$ menunjukkan bahwa DUCC F123 memiliki rata-rata total gula paling tinggi dibandingkan DUCC F129 dan DUCC F102 yaitu sebesar 4,234 mg/ml.

Hasil uji aktivitas enzim fruktosiltransferase (FTase) yang dilakukan setelah fermentasi 48 jam pada suhu ruang dengan metoda DNS pada penelitian ini bernilai negatif, hal ini dimungkinkan disebabkan karena perbedaan spesies yang digunakan. Yun & Song (1999) menjelaskan bahwa aktivitas FTase bergantung pada masing-masing spesies. Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil uji enzim Ftase adalah agitasi (Dhake & Patil, 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh FOS yang dihasilkan oleh kultur DUCC F123, DUCC F129 dan DUCC F102 diduga adalah kestosa dengan DP berturut-turut 3,545; 3,215; 3,049.

Untuk mendapatkan hasil yang akurat disarankan menggunakan metode HPLC dalam analisis FOS.

DAFTAR PUSTAKA

- Antosova, M. and M. Polacovic. 2001. *In: Antosova, M (Eds). 2002. Effect of Sucrose Concentration and Cultivation Time on Bath Production of Fructosyltransferase by *Auriobasidium pullulans* CCY 27-1-1194. Chem. Pap. 56(6): 394-339.*
- Chaplin, M. F. and J. F. Kennedy. 1994. *Carbohydrat Analysis: A Practical Approach. 2nd Edition. Oxford University Press, Oxford.*
- Dorta, C, R. Cruz, and P. de Oliva-Neto. *Sugaracane Molases and Yeast Powder Used in the Fructooligosaccharides Production by *Aspergillus japonicus*-FCL 119T and *Aspergillus niger* ATCC 20611. J Ind Microbiol Biotechnol. 33: 1003-1009.*
- Dhake, A. B. and M. B. Patil. 2007. *Effect of Substrate Feeding on Production of Fructosyltransferase by *Penicillium purporogenum*. Braz. J. Microbiol. 38:194-199.*
- Miller, G. L. 1959. *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Production of Fructosyltransferase by *Penicillium purporogenum*. Braz. J. Microbiol. 38:194-199.*
- Sanchez, O. F, Ana M. R., Edelberto S. and Luis A. C. 2008. *Sucrose Biotransformation to Fructooligosaccharides by *Aspergillus sp.* N74 Free Cells. Food Bioprocess Technol 3: 662-673.*
- Santos, A. M. P. and Maugeri, F. 2007. *Synthesis of Fructooligosaccharides from Sucrose Using Inulinase from *Kluyveromyces marxianus*. J. Food Technol and Biotechnol. 45 (2):181-186*
- Wijanarka, E. Kusdiyantini dan H. Pancasakti. 2006. *Paket Teknologi Eksplorasi Khamir Inulinolitik Thermostabil Umbi Dahlia (*Dahlia variabilism*Willd) Jawa Tengah melalui Teknik Fusi Protoplas dan Aplikasinya pada Produksi High Fructose Syrup (HFS). Laporan Hasil pelaksanaan Penelitian Hibah Bersaing Perguruan Tinggi XIV/I Tahun Anggaran 2006.*
- Wijanarka, R. S. Ferniah dan Salamah. 2008. *Produksi Inulinase *Pichia alni* DUCC-W4 pada Tepung Umbi Dahlia (*Dahlia variabilis* Willd) dengan*

Variasi Konsentrasi Ammonium Nitrat dan Waktu Inkubasi. *Bioma*. Vol. 10, No. 2, Hal. 58-64.

Yun, J. W. and S. K. Song. 1999. Enzymatic Production of Fructooligosaccharides from Sucrose. *In* Bucke, C. (Ed). 1999. *Methods in*

Biotechnology, 10: 141-151 *Carbohydrate Biotechnology Protocols*. Human Press Inc, New York.