

PENGARUH KETERSEDIAAN OKSIGEN PADA PRODUKSI EPIGLUKAN OLEH *Epicoccum nigrum* MENGGUNAKAN MEDIA MOLASES

Miftahul Choiron, Jayus, Sony Suwasono
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
Korespondensi : miftahul.choiron@yahoo.com

ABSTRACT

*The compound β -glucan is a polymer of glucose, which is polymerized through beta glycoside bond. The compound β -glucan has anti-tumor benefits, reducing the risk of heart disease, lowering cholesterol and so forth. The compound β -glucan can be produced by the fungus in ukstraseluler. One of the molds that can produce compounds in the extracellular β -glucan is *Epicoccum nigrum*, often called epiglukan. The purpose of this study was to determine the effect of aeration and oxygenation to the production epiglukan by *Epicoccum nigrum* in molasses media. This research was conducted using descriptive method with 3 under controlled conditions : anaerobic, aeration and oxygenation in the Stirred Continuous Tank Reactor (batch culture). The parameters observed were the biomass (g / L), epiglukan (g/L), reducing sugar content (%) and pellet diameter are formed. Biomass and highest epiglukan obtained in oxygenated conditions which amounted to 7.074 g / L and 2.01 g / L. The resulting biomass pellet-shaped with the largest diameter occurs in conditions of oxygenation that is 0.37 mm. residual reducing sugar at the end of fermentation the greatest there is in the anaerobic condition is 1.529%*

Keyword : Epiglukan, β -glucan, *Epicoccum nigrum*, oxygen availability

PENDAHULUAN

Bahan pangan yang kini mulai banyak diminati konsumen bukan saja yang mempunyai komposisi gizi yang baik serta penampakan dan cita rasa yang menarik, tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh (Astawan, 2003). Golongan senyawa yang dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu di dalam pangan fungsional adalah senyawa-senyawa alami di luar zat gizi dasar yang terkandung dalam pangan yang bersangkutan, salah satu diantaranya adalah senyawa β -glukan.

Senyawa β -glukan yang saat ini tersedia dalam bentuk aktif adalah β -(1,3)-glukan dengan rantai tepi β -(1,6)-glukan, yang didapat dari khamir dan kapang, termasuk yang berasal dari mushroom. Selain itu juga masih ada beberapa β -glukan yang berasal dari biji-bijian, seperti oat dan barley dengan komposisi ikatan β -(1,4)-glukosidik (Stone&Clarke, dalam Jayus, 2003).

Banyak manfaat mengenai senyawa β -glukan sudah dipublikasikan, diantaranya

adalah kemampuan untuk menjadi pengental dan pembentuk tekstur (Ramesh dan Tharanathan, 2003) serta dapat mengurangi resiko terkena penyakit jantung koroner (Wood dan Beer dalam Cui, 2001), dan memiliki aktivitas antitumor (Mizuno dkk., dalam Ramesh dan Tharanathan, 2003). Bahkan sebuah studi terbaru, yang dipublikasikan dalam *American Journal of Clinical Nutrition*, melaporkan hasil penelitian tentang pengaruh minuman buah yang difortifikasi dengan β -glukan terdapat tingkat kolesterol LDL (*Low Density Lipoprotein*) pada 47 orang sukarelawan menunjukkan terjadinya penurunan yang signifikan tingkat kolesterol LDL setelah mengkonsumsi minuman buah tersebut (Anonim, 2006a).

Senyawa β -glukan merupakan biopolymer dari glukosa yang memiliki konfigurasi ikatan β - pada ikatan glikosida. Senyawa ini diproduksi baik oleh mikroba maupun non mikroba (Stone dan Clarke, dalam Jayus, 2003). Senyawa β -glukan didapat dari khamir dan kapang, termasuk

yang berasal dari mushroom. Banyak mikroba yang diketahui memproduksi eksopolisakarida dengan variasi struktur yang kompleks (Ramesh dan Tharanathan, 2003). Banyaknya glukukan dihasilkan dari dinding sel *Saccharomyces cereviceae*, dan hanya sedikit publikasi yang menjelaskan produksi glukukan secara ekstraseluler sebagai hasil sekresi mikroba selama pertumbuhan. Merupakan hal yang menarik apabila memproduksi glukukan secara ekstraseluler menggunakan kapang *Epicoccum nigrum* karena beberapa turunannya mungkin juga dapat dihasilkan.

Peningkatan produksi glukukan dapat ditempuh dengan cara optimasi lingkungan tumbuh, penggunaan sumber karbon alternative (Nuswantara, 2004). Dalam produksi glukukan secara ekstraseluler menggunakan kapang *E. nigrum* dapat digunakan molases masih memiliki kandungan gula yang cukup tinggi, antara lain adalah sukrosa (30-40%), dekstrosa (4-9%) dan levulosa (5-12%). Selain itu produksi molases di dalam negeri juga sangat tinggi seiring meningkatnya produksi gula dalam negeri, lebih dari 45.000 ton per tahun untuk tiap BUMN perkebunan (Anonim, 2006b), sehingga bahan baku yang digunakan untuk media pertumbuhan kapang tersebut mudah didapat.

Optimasi lingkungan tumbuh dapat dilakukan dengan mengkondisikan kultur pada kondisi optimum pertumbuhan kapang. Penelitian dengan perlakuan pH 6 menggunakan media molases pada *shaker flask* menghasilkan epiglukan 4.36 gr/L (Hapsari, 2006). Kontrol terhadap media pertumbuhan sulit dilakukan pada metode tersebut untuk mengendalikan kondisi pertumbuhan, oleh karena itu penggunaan fermenter dalam proses fermentasinya diharapkan mampu memberikan kondisi terkendali bagi pertumbuhan *E. nigrum*.

Kondisi lingkungan pada fermentasi dengan menggunakan fermenter akan mempengaruhi morfologi hifa dan struktur pellet dari *E.nigrum*. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan kapang pada kultur terendam antara lain tingkat agista, produksi CO₂, pH, perubahan O₂, komposisi medium, serta konsentrasi inokulum. Faktor-faktor tersebut juga dapat mempengaruhi morfologi kapang yang berbeda dapat

menghasilkan metabolit yang berbeda pula. Sebagai contoh, *Aspergillus niger* dalam bentuk pellet akan menghasilkan metabolit asam sitrat sedangkan dalam bentuk filamen yang terdispersi akan menghasilkan metabolit berupa amylase (Gibbs, 2000).

Transfer oksigen pada sel mikroba merupakan suatu hal yang sangat penting pada fermentasi secara aerob dan hal tersebut dapat menjadi sulit pada beberapa jenis fermentasi dengan media pertumbuhan yang, berbeda. *E. nigrum* merupakan jenis kapang yang bersifat aerob, oleh karenanya sangat diperlukan adanya oksigen yang cukup untuk pertumbuhannya. Ketersediaan oksigen dalam kultur terendam sangat dibutuhkan oleh *E. nigrum* dalam pertumbuhannya, namun sampai saat ini belum diketahui seberapa besar kebutuhan oksigen bagi *E. nigrum*. Ketersediaan oksigen dalam penelitian ini akan diatur dengan beberapa cara yaitu aerasi dan oksigen.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan biakan murni *E. nigrum* strain F19 yang diperoleh dari Culture Collection of La Trobe University (Australia), yang ditumbuhkan pada media Malt Extract Agar (MEA) dan molases. Bahan kimia yang digunakan adalah K₂HPO₄, CuSO₄.5H₂O, ZnSO₄.7H₂O, H₂SO₄, Na₂MoO₄.2H₂O, MgSO₄.7H₂O (sebagai bahan-bahan untuk membuat *mineral solution*), NaNO₃, NaOH, alkohol teknis dan aquades.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: satu set fermenter tipe CSTR (*Continous Sired Tank Reactor*), Erlenmeyer 250 ml dan 1000 ml, gelas ukur 100 ml dan 10 ml, sendok stainless-steel, *beaker glass* 100 ml, 1000 ml, 2000 ml dan 50 ml, tabung reaksi, pengaduk kaca, pipet tetes, cawan petri, hot plate, incubator, oven pengering, neaca analitik, pompa vakum, 1 set filter bakteri, stirrer, jarum ose, kapas sumbat, aluminium foil, cling wrap, kertas kayu, botol semprot, pH-meter, *laminar air-flow*, autoklaf, dan Bunsen.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan media molasses dan beberapa kondisi yang terkendali. Proses fermentasi dilakukan pada pH awal 6, suhu pertumbuhan 28°C dan agitasi 500 rpm dengan perlakuan:

A1 = Tanpa aerasi

A2 = Aerasi 0,3 vvm (volume per volume menit)

A3 = Oksigenasi 0,3 vvm (volume per volume menit)

Aerasi diberikan dengan mengalirkan udara bebas kedalam medium sedangkan oksigenasi dilakukan dengan mengalirkan oksigen murni kedalam media pertumbuhan menggunakan tabung oksigen.

Pada masing-masing perlakuan diambil sampelnya untuk dilakukan pengamatan pada hari ke : 0,1,2,3,4,5 dan 6. Parameter pengamatan yang dilakukan berupa pengamatan terhadap biomassa dengan menghitung berat keringnya, pengamatan epiglukan dan pengamatan gula reduksi. Pengamatan juga dilakukan terhadap morfologi *E. nigrum* berupa diameter pellet pada masing-masing pengamatan. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan kemudian dari data pengamatan terhadap biomassa, epiglukan dan kadar gula reduksi dicari rata-rata kemudian dibuat grafik.

Pertumbuhan Kultur *E. nigrum* dalam Malt Ekstrak Agar (MEA)

Kultur murni *E. nigrum* berasal dari Culture Collection of La Trobe University (Australia) yang kemudian digunakan sebagai kultur stok dalam bentuk media agar miring. Untuk mengembangkan atau memperbanyak kultur *E. nigrum* bisa dilakukan dengan menggunakan MEA. MEA dan cawan petri yang digunakan harus benar-benar steril. Cawan yang telah diisi 20 ml MEA dibiarkan hingga padat di dalam *laminar air flow*. Setelah media agar benar-benar telah padat, maka dilakukan pemindahan kultur *E. nigrum* dari agar miring ke media MEA dengan teknik taburan atau penyebaran. *Plate* yang telah terisi culture diinkubasi pada suhu 28°C, selama 3-4 hari.

Pembuatan Media Pertumbuhan *E. nigrum*

Media molasses diberi *pretreatment* (hidrolisa), diatur pH nya hingga mencapai pH 6 kemudian ditambahkan NaNO₃ sebanyak 0,5 g/L dan larutan garam mineral yang telah disiapkan sebanyak 50 ml/L. Kemudian sebanyak 1L media yang telah diperoleh dimasukkan dalam fermenter untuk kemudian disterilisasi. Sterilisasi dilakukan pada suhu 121°C tekanan 1 atm, selama 15 menit.

Inokulasi Biakan *E. nigrum* dalam Media Cair

Proses inokulasi ini harus dilakukan secara aseptis. Inokulum di *scrap* dan diencerkan kemudian diukur konsentrasinya. Setelah diketahui jumlah sel dalam suspensi barulah sel dipindahkan kedalam Erlenmeyer steril untuk kemudian diinokulasikan ke dalam fermenter sehingga jumlah yang ditambahkan sama setiap kali ulangan. Pemindahan suspensi sel dilakukan secara aseptis untuk menghindari resiko kontaminasi. Setelah biakan *E. nigrum* diinokulasikan ke dalam media cair kemudian diinkubasi selama 6 hari pada 500 rpm dengan suhu 28°C.

Penentuan Biomassa

Media yang akan dilakukan pengamatan diekstraksi dengan *filter set* dan dibantu pompa vakum. Biomassa *E. nigrum* dipisahkan dari filtratnya dengan penyaringan yang berat awal kertas saring diketahui. Kemudian kertas saring yang berisi biomassa tersebut dioven pada suhu 100°C sampai beratnya konstan, setelah kering ditimbang sehingga diketahui berat akhirnya. Berat sel diketahui dengan menghitung selisih berat awal dan berat akhir.

Penentuan Rendemen Epiglukan

Ekstraksi epiglukan dilakukan dengan penambahan etanol teknis pada filtrat yang diperoleh dengan perbandingan 1:1. Filtrate kemudian dikocok atau diaduk sehingga homogeny. Larutan etanol dan filtrat ini disaring dengan menggunakan kertas saring yang telah diketahui beratnya, dalam penyaring vakum. Kertas saring yang berisi epiglukan dioven pada suhu 100°C sampai beratnya konstan. Selisih antara berat kertas saring setelah dioven dengan berat awalnya adalah rendemen dari epiglukan.

Analisa Gula Reduksi Metode Nelson Somogy.

Analisa gula reduksi dilakukan dengan menggunakan metode Nelson Somogy yang meliputi pembuatan kurva standar kemudian dilakukan pengukuran gula reduksi. Prosedur analisa mengacu pada prosedur menurut Sudarmadji dkk. (1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

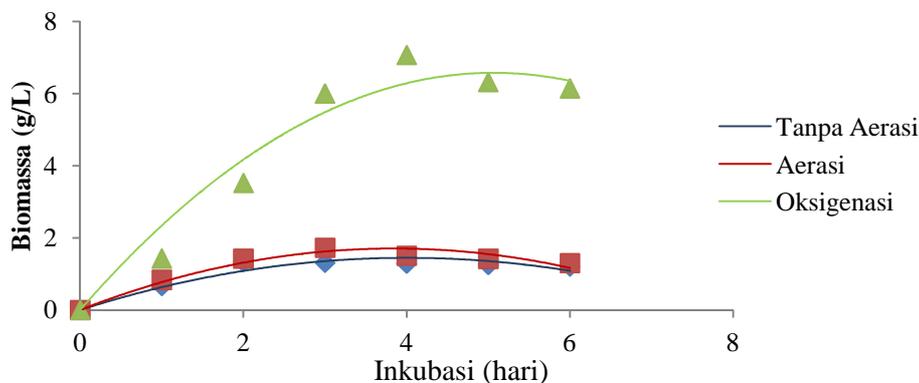
Pembentukan Biomassa oleh *E. nigrum*

E. nigrum selama pertumbuhannya dalam kultur terendam (*submerged culture*) membentuk biomassa yang berupa pellet. Pembentukan biomassa oleh *E. nigrum* pada kondisi ketersediaan oksigen yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 1. Pertumbuhan biomassa pada mikroorganisme terjadi secara eksponensial dimana pada awal pertumbuhan merupakan fase adaptasi (*lag phase*) yang kemudian diikuti pertumbuhan yang cepat pada fase pertumbuhan (*log phase*). Fase berikutnya merupakan fase stasioner dimana pertumbuhan mikroorganisme dalam keadaan statis yang pada akhirnya menuju fase kematian (*death phase*) akibat autolisis mikroorganisme itu sendiri.

Pada kurva yang ditunjukkan Gambar 1 terlihat bahwa pada kondisi ketersediaan oksigen yang terbatas atau perlakuan tanpa aerasi (perlakuan A1) pertumbuhan sel sudah mulai terjadi sejak hari ke 1 dan pada hari ke 4 diperoleh berat kering biomassa sebesar $1,29 \pm 0,158$ g/L. kemudian turun terjadi $1,21 \pm 0,054$ g/L pada hari ke 6. Sedangkan untuk perlakuan aerasi (perlakuan

A2), biomassa yang terbentuk pada hari ke 4 sebesar $1,506 \pm 0,482$ g/L. pada hari ke 6 biomassa mengalami penurunan hingga mencapai $1,301 \pm 0,313$ g/L. Pada kondisi pemberian oksigen (perlakuan A3), biomassa yang terbentuk lebih besar jika dibandingkan dengan perlakuan A1 dan perlakuan A2. Pada kondisi teroksigenasi ini pertumbuhan biomassa pada hari ke 4 sebesar $7,074 \pm 0,786$ g/L. Pada hari ke 6 biomassa mengalami penurunan hingga mencapai $6,146 \pm 1,358$ g/L.

Berdasarkan data-data tersebut diatas dapat dilihat bahwa pertumbuhan *E. nigrum* dipengaruhi oleh ketersediaan oksigen. Pengaruh oksigen terhadap biomassa yang terbentuk ditunjukkan oleh peningkatan jumlah berat kering biomassa *E. nigrum*, jadi semakin tinggi ketersediaan oksigen maka semakin tinggi biomassa yang terbentuk. Pengaruh ini diduga terkait dengan proses metabolisme sel dimana pada jalur glikolisis akan menghasilkan 2 molekul asam piruvat untuk tiap molekul glukosa dan dalam keadaan aerobik atau adanya oksigen masing-masing asam piruvat akan memasuki mitokondria dan metabolisme terbentuk CO_2 dan H_2O melalui siklus asam sitrat (Murray, 2003). Pengaruh pemberian oksigen seperti pada *E. nigrum* juga terjadi pada kapang lain. Zetelaki dan Vas (1968) mengungkapkan adanya peningkatan oksigen dalam kultur *A. niger* dapat menghasilkan dinding sel yang lebih tebal daripada pemberian oksigen yang lebih sedikit, sehingga berat kering biomassa yang terbentuk akan lebih besar.



Gambar 1 Pembentukan Biomassa oleh *E. nigrum*

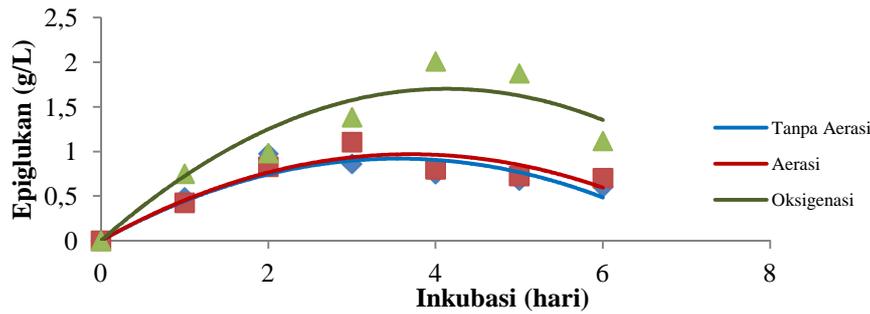
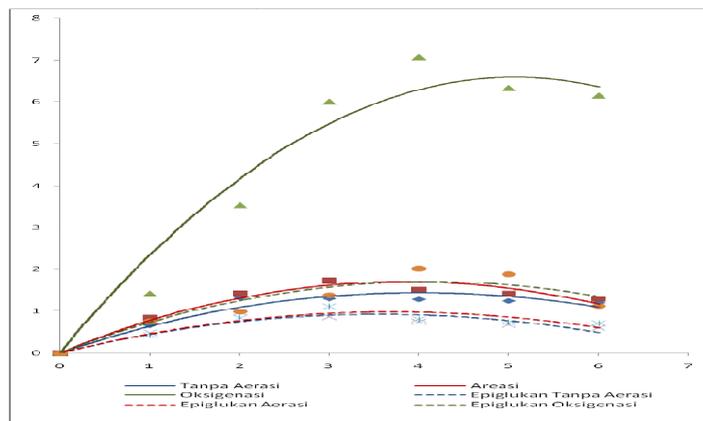
Oksigen yang diberikan kepada media pertumbuhan, seperti pada penelitian oksigen yang disalurkan pada media yang berasal dari udara bebas hanya sekitar 21% (Yatim, 1987) sedangkan pada perlakuan oksigenasi (A3) kadar oksigen yang disalurkan kedalam media $\pm 100\%$ karena berasal dari tabung oksigen. Perbedaan kadar oksigen yang diberikan pada media akan mempengaruhi perbedaan ketersediaan oksigen dalam media itu sendiri. Ketersediaan oksigen yang mempengaruhi positif maupun negatif. Pengaruh positif oksigen terkait dengan proses metabolisme sel seperti yang ditunjukkan oleh *E. nigrum* yakni pembentukan biomassa yang lebih tinggi. Ketersediaan oksigen juga dapat berpengaruh negatif pada mikroorganisme yang lain terutama pada konsentrasi yang tinggi dan akan berpengaruh pada mikroorganisme yang bersifat anaerob. Pengaruh ini biasanya terkait sifat toksik atau racun dari oksigen apabila membentuk radikal bebas atau superoksida. Radikal superperoksida dan produk ikutan kasil reaksi O_2^- dengan H_2O_2 yaitu radikal hidroktil bersifat sangat reaktif sehingga dapat menjadi racun bagi sel (Schlegel, 1994). Pada penelitian ini tidak dilakukan pengamatan terhadap efek negative dari ketersediaan oksigen yang berlebih.

Biomassa *E. nigrum* mengalami penurunan setelah mencapai berat kering biomassa yang maksimal, penurunan berat kering biomassa ini kemungkinan diakibatkan oleh lisisnya sel kapang itu sendiri. Autolisis yang dialami oleh kapang dan sel yang lain dapat menyebabkan penurunan berat biomassa karena selama proses lisis tersebut mitokondria akan mengeluarkan enzim yang dapat menghancurkan organela-organela termasuk membran sel itu sendiri sehingga sel tersebut akan mengalami kerusakan sehingga komponen sel akan hilang dan terdispersi kedalam media. Kerusakan pellet atau

autolisis yang terjadi pada kapang juga diungkapkan oleh Sinha dkk. (dalam Hapsari, 2006), dimana produksi biopolimer oleh *Paecilomyces japonica* menggunakan *batch bioreactor*, dengan waktu fermentasi selama 7 hari, biomassa berbentuk pellet mengalami kerusakan dan miselinya lemah serta terlihat kurus, menurut McNeil dkk. (1998), kondisi sumber nitrogen dan oksigen yang terbatas dapat menyebabkan autolisis sel, dimana aktivitas β -(1,3)-glukanolitik dapat digunakan sebagai indikasi adanya degradasi matriks polimer dinding sel yang terjadi selama autolisis sel oleh jamur *Penicillium chrysogenum*. Selain itu *Metarhizium anisopliae* juga mengalami penurunan berat kering biomasanya selama proses autolisis sebesar 7,4% pada hari ke 7 dan mencapai penurunan 61,4% pada hari ke 16 (Braga dkk., 1999).

Pembentukan Epiglukan oleh *E. nigrum*

Pembentukan epiglukan oleh *E. nigrum* pada pemberian oksigen yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 2. Pada grafik tersebut terlihat bahwa produksi epiglukan oleh *E. nigrum* mulai terjadi pada hari ke 1 untuk ketiga kondisi perlakuan. Pada kondisi tanpa aerasi (perlakuan A1), produksi epiglukan mencapai $0,748 \pm 0,044$ g/L pada hari ke 4 dan turun menjadi $0,602 \pm 0,11$ g/L pada hari ke 6 (Lampiran B1). Pada kondisi pemberian aerasi (perlakuan A2), produksi epiglukan oleh kapang ini pada hari ke 4 sebesar $0,802 \pm 0,054$ g/L dan turun hingga mencapai pada hari ke 6. Pada perlakuan oksigenasi (perlakuan A3) terjadi pembentukan epiglukan yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan A1 dan perlakuan A2. Pada hari ke 4 produksi epiglukan sebesar $2,01 \pm 0,03$ g/L sedangkan pada hari ke 6 produksi epiglukan menurun menjadi $1,118 \pm 0,094$ g/L.

Gambar 2 Pembentukan Epiglukan oleh *E. nigrum*Gambar 3 Pembentukan Epiglukan dan Biomassa oleh *E. nigrum*

Hubungan antara pertumbuhan biomassa dan produksi epiglukan terlihat pada Gambar 3. Kurva tersebut menunjukkan bahwa epiglukan diproduksi seiring dengan pertumbuhan biomassa sel sehingga kemungkinan *E. nigrum* mengalami proses fermentasi secara *growth related* yaitu pertumbuhan biomassa atau sel dan pembentukan metabolit atau produk berjalan seiring.

E. nigrum merupakan kapang yang bersifat aerob sehingga dalam pertumbuhannya membutuhkan oksigen. Selama pertumbuhannya kapang ini akan menghasilkan metabolit primer dan sekunder. Metabolit primer yang dihasilkan oleh *E. nigrum* tidak diamati pada penelitian kali ini. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang ini antara lain pigmen (Tuttobello, 1969) dan epiglukan (Schmid, 2001). Dari gambar 3 terlihat bahwa epiglukan diproduksi seiring dengan pertumbuhan sel itu sendiri.

Polisakarida, termasuk β -glukan, disintesis oleh kapang secara intraselular maupun secara ekstraselular. Pembentukan β -glukan oleh kapang secara intraselular

kemungkinan dilakukan untuk menyusun dinding sel kapang, hal ini seperti yang telah diungkapkan oleh Ruiz-Herrera (1991), dimana β -glukan yang disintesis merupakan penyusun dari dinding sel. *Schizophyllum commune* merupakan salah satu contoh kapang yang memiliki komponen β -glukan sebagai penyusun dinding selnya (Wessel dan Sietsma, 1979). Pembentukan β -glukan pada dinding sel diawali oleh adanya gula yang diaktifasi oleh UPT yaitu gula UDT (Urasil Dinukleotida Phospat) yang kemudian diikat oleh lipid sebagai pengangkut dan disusun menjadi komponen-komponen homopolimer atau heteropolimer yang spesifik, jika β -glukan dibentuk sebagai dinding sel maka akan diangkut dari protoplas ke lapisan dinding sel dan jika β -glukan disintesa secara ekstraselular maka β -glukan dari protoplas diangkut ke lapisan luar dari dinding sel dimana zat ini dihubungkan menjadi makromolekul eksopolisakarida (Schlegel, 1994).

Epiglukan merupakan polisakarida yang dihasilkan oleh *E. nigrum* secara eksoselular. Pembentukan β -glukan diduga

sebagai cadangan sumber karbon atau energi, untuk melindungi sel dari tekanan dan kehilangan air (Willems, 1971). Dari hasil penelitian ini dapat dilihat bahwa produksi epiglukan akan mengalami peningkatan seiring semakin tingginya ketersediaan oksigen pada media fermentasi. Peningkatan ini diduga terkait keberadaan oksigen yang mendukung pembentukan enzim yang digunakan untuk proses polimerisasi ekstraselular.

Kondisi perlakuan oksigenasi (perlakuan A3) menghasilkan produk epiglukan yang lebih tinggi dibandingkan kondisi perlakuan A1 dan A2. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan oksigen akan menyebabkan peningkatan jumlah produksi epiglukan. Meski beberapa penelitian yang lain menunjukkan hasil yang sebaliknya namun tidak sedikit peneliti yang mempublikasikan penelitiannya bahwa transfer oksigen yang tinggi dapat menghasilkan pembentukan eksopolisakarida yang tinggi pula seperti yang dikemukakan oleh Rho dan Dufresne (dalam Seviour dkk., 1992), bahwa transfer oksigen yang tinggi dapat menghasilkan pembentukan pululan yang tinggi pula.

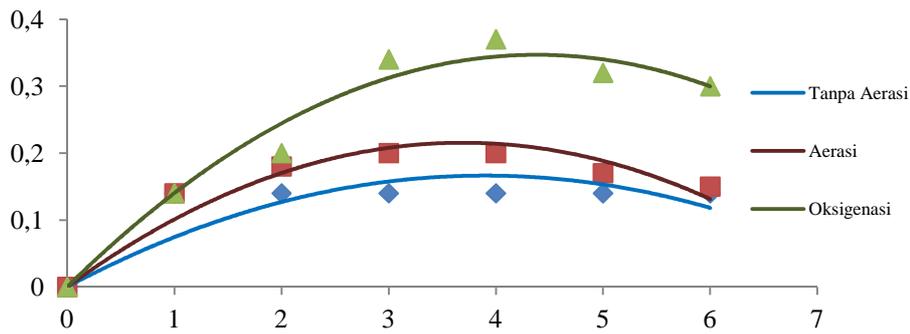
Berdasarkan data hasil penelitian ini, epiglukan akan mengalami penurunan setelah beberapa hari. Penurunan epiglukan kemungkinan disebabkan karena beberapa faktor misalnya adanya degradasi epiglukan oleh enzim glukonase yang kemungkinan dihasilkan oleh *E. nigrum* karena telah terbatasnya sumber karbon glukosa yang dapat digunakan untuk pertumbuhan dan membentuk epiglukan. Beberapa jenis kapang lain yang telah dipublikasikan seperti *A. persicinum*, *S. glucanicum* dan *C. fusiformis* menghasilkan enzim glukonase yang dapat memecah β -glukan yang telah dihasilkan. Degradasi epiglukan menjadi monomer glukosa dilakukan jika jumlah glukosa dalam substrat semakin terbatas sehingga glukosa hasil degradasi itu kemungkinan dapat digunakan kembali sebagai sumber karbon. Hal ini seperti dikemukakan oleh Seviour dkk., (1992) bahwa β -glukan disintesa juga

untuk digunakan sebagai cadangan sumber energy oleh *C. fusiformis*.

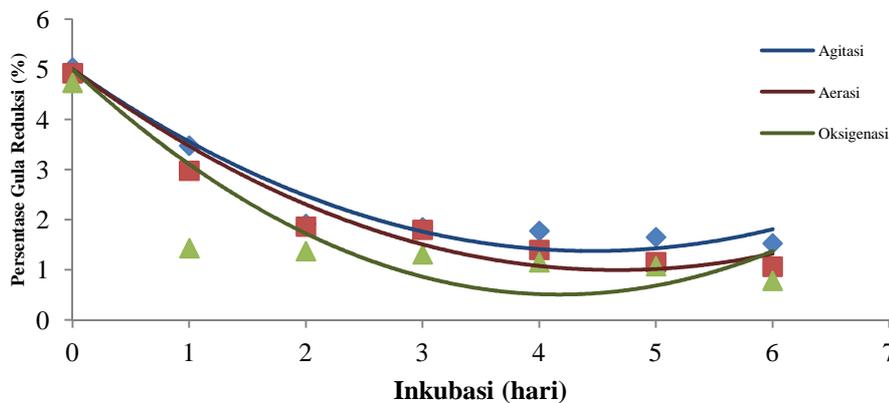
Diameter Pellet *E. nigrum* pada Kadar Oksigen yang Berbeda Dalam Media

Bentuk morfologi dari kapang selama pertumbuhannya akan berpengaruh terhadap metabolit yang dihasilkan. Sebagai contoh *A. niger* akan memproduksi metabolit berupa asam sitrat jika morfologinya berupa pellet akan tetapi jika morfologi pertumbuhannya berupa filamen terdispersi maka metabolit adalah amilase (Seviour dkk., 1992). *E. nigrum* selama pertumbuhannya pada kultur terendam menggunakan media molases membentuk pellet dengan hasil metabolit berupa eksopolisakarida.

Ketersediaan oksigen mempengaruhi ukuran pellet dari *E. nigrum* seperti yang terlihat pada Gambar 4.4 dimana ukuran pellet meningkat seiring peningkatan jumlah oksigen yang diberikan. Pada kondisi perlakuan A1, ukuran pellet yang terbentuk rata-rata berdiameter tetap 0,14 mm, sedangkan untuk kondisi perlakuan A2 diameter maksimum pellet yang dibentuk terjadi pada hari ketiga yaitu 0,2 mm. Pada kondisi perlakuan A3 diameter pellet yang dibentuk meningkat dan mencapai ukuran maksimum pada hari keempat yang rata-rata berukuran 0,37 mm. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh kebutuhan oksigen *E. nigrum* dalam proses metabolismenya yang menggunakan oksigen dari media disekitarnya sehingga pertumbuhan dan pembentukan pellet lebih besar. Jalur metabolisme yang terkait dengan pertumbuhan dan ukuran diameter pellet yang dihasilkan kemungkinan pada jalur setelah glikolisis yaitu pada pembentukan asetil KoA dari asam piruvat dan adanya oksigen sebagai aseptor elektron terakhir hingga membentuk H₂O dan CO₂. Meski belum ada penjelasan yang mendasari hasil penelitian ini secara tepat mengenai pengaruh oksigen terhadap morfologi pellet yang dibentuk namun penelitian yang dilakukan Litchfield (1970) dan Martin dan Bailey (1985) menunjukkan bahwa tingkat aerasi dapat mempengaruhi struktur dan ukuran pellet, seperti pada *Agaricus campestris* NRRL 2334.



Gambar 4 Ukuran Diameter Rata-rata Pellet *E. nigrum* pada Berbagai Kondisi Ketersediaan Oksigen



Gambar 5 Persentase Sisa Gula Reduksi

Persentase Sisa Gula Reduksi pada Ketersediaan Oksigen yang Berbeda

E. nigrum selama pertumbuhannya akan menggunakan gula reduksi, terutama glukosa, untuk proses metabolisme. Gambar 5 menunjukkan persentase penggunaan gula reduksi oleh *E. nigrum* selama pertumbuhannya dari hari pertama hingga hari keenam. Dari kurva tersebut dapat kita lihat bahwa terjadi penurunan persentase gula reduksi untuk ketiga kondisi perlakuan yang berbeda, hal ini menunjukkan bahwa *E. nigrum* menggunakan gula reduksi tersebut untuk proses metabolisme selama pertumbuhannya.

Dari ketiga kondisi fermentasi tersebut perbedaan penggunaan gula reduksi mulai terlihat pada hari pertama. Pada kondisi perlakuan A1 terjadi penurunan kadar gula reduksi sebesar 63,67 % dari hari ke nol sebesar 4,898 % menjadi 1,779 % pada hari keempat. Sedangkan pada kondisi perlakuan

A2 penurunan kadar gula reduksi sebesar 71,44 % dari hari ke nol sebesar 4,898 % menjadi 1,399 % pada hari keempat. Sedangkan untuk kondisi perlakuan A3 penurunan gula reduksi merupakan yang paling besar yaitu sebesar 76,46 % dari hari ke nol sebesar 4,898 % menjadi 1,153 % pada hari keempat.

Penurunan kadar gula reduksi yang cukup besar hanya terjadi pada awal pertumbuhan, hal ini diduga dikarenakan pada saat tersebut *E. nigrum* akan menggunakan gula-gula reduksi sebagai sumber karbon, terutama glukosa, secara langsung untuk kelangsungan hidup dan proses metabolisme selnya, sedangkan pada hari berikutnya penurunan tidak terlalu signifikan diduga karena pada kondisi tersebut jumlah sumber karbon yang berupa glukosa dalam media yang berupa molasses mulai menipis dan yang tersisa adalah disakarida ataupun polisakarida sehingga *E. nigrum* harus merombaknya terlebih dahulu menjadi gula sederhana untuk

dapat digunakan sebagai sumber karbon sehingga penurunan persentasenya tidak terlalu besar. Schlegel (1994), mengemukakan bahwa mikroorganisme akan terlebih dahulu menggunakan sumber karbon yang mudah dimetabolisme, dalam hal ini glukosa, terlebih dahulu selama pertumbuhannya.

Berdasarkan grafik yang terbentuk, gula reduksi terus mengalami penurunan dan tidak habis pada akhir fermentasi di hari ke 6. Hal ini diperkirakan dapat terjadi karena pembentukan enzim eksoselular glukonase yang memecah epiglukan menjadi monomer glukosa akan menambah jumlah gula reduksi pada substrat apabila jumlah glukosa dalam media terbatas. Hal ini seperti yang diungkapkan Seviour dkk. (1992) dimana pembentukan β -glukan digunakan sebagai produk untuk menyimpan energy sehingga pada kondisi tertentu β -glukan tersebut akan didegradasi agar dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan mempertahankan hidupnya.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini ini, dapat diambil kesimpulan bahwa (i) Ketersediaan oksigen berpengaruh terhadap pembentukan biomassa dan produksi epiglukan dimana semakin tinggi tingkat ketersediaan oksigen maka semakin tinggi pula pertumbuhan biomassa dan produksi epiglukan yang dihasilkan. (ii) Pertumbuhan biomassa tertinggi diperoleh pada perlakuan oksigenasi sebesar 7,704 g/L kemudian disusul perlakuan aerasi dan tanpa aerasi sebesar masing-masing sebesar 1,728 g/L dan 1,332 g/L. (iii) Produksi epiglukan tertinggi terjadi pada perlakuan oksigenasi sebesar 2,01 g/L kemudian disusul perlakuan aerasi dan tanpa aerasi sebesar 1,105 g/L dan 0,974 g/L. (iv) Selama proses fermentasi *E. nigrum* membentuk pellet dengan ukuran diameter rata-rata terbesar adalah perlakuan oksigenasi sebesar 0,37 mm yang selanjutnya aerasi 0,2 mm dan tanpa aerasi 0,14 mm.

DAFTAR PUSTAKA

Braga, Gilberto U.L., Richardo H. D. R. dan Claudio L. M. 1999. *Protease Production During Growth and Autolysis of Submerged Metarhizium*

- anisopliae* Culture. Revista de Microbiologia. 30 : 107-113
- Cui, S. W 2001. *Polysaccharide Gums from Agricultural Products*. Pennsylvania: Technomic Publishing Co.
- Hapsari, S. M. 2006. *Pemanfaatan Molases Sebagai Media Produksi Epiglukan oleh Epicoccum nigrum*. Karya Ilmiah Tertulis. Jember : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Jayus. 2003. *Properties of the β -Glucanases from Acremonium sp. IMI 383086 and Factors Affecting Their Production*. Thesis. La Trobe University Bendigo Australia.
- McNeil, B., Berry, D.R., Harvey, L.M., Grant, A., dan Whitw, S. 1998. *Measurement of Autolysis in Submerged Bacth Cultures of Penillcium chrysogenum*. Biotechnology and Bioengineering 57 : 297-305. www.wiley Interscience Journal Abstract.htm. [5 April 2007]
- Murray, R. K., Granner D. K., Mayes, P. A., dan Rodwell V. W. 2003. *Biokimia Harper*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Nuswantara, Sukma. 2004. *Produksi Biopolimer Beta Glukan dan Komplementasi Mutan TN-5 : DIP 2004*. Indonesian Institute of Sciences, Research Center for Biotechnology.
- Plazl, P. Znidarsie. 2006. *The Influence of Some Engineering Variables Upon the Morphology of Rhizopus nigricans in a StrredTankBioreactor*. Faculty of Chemistry and Chemical Technology, University of Ljubljana, (3) 275-280.
- Ramesh, H. P. dan Tharanathan R. N. 2003. *Carbohydrates-The Renewable Raw Materils of High Biotechnological Value*. Critical Review in Biotechnology 23 (2) : 149-173
- Ruiz-Herrera J. 1991. *Biosynthesis of β -Glucans in Fungi*. Anton. Van Leeuwen., 60, 73.
- Schlegel, H. G. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta : UGM Press.
- Schmid, F., Stone, B. A., McDougall, B. M., Bacic, A., Martin, K. L., Brownlee, R. T. C., Chai, E., Seviour, R. J. 2001. *Structure of Epiglukan, A highly Side-Chain/Branched (1 \rightarrow 3; 1 \rightarrow 6)- β -Glucan from The Micro Fungus*

- E.nigrum. Carbohydrate Research 331:163-171.
- Savior, R. J., Stasinopoulus, S. J., Auer, D. P. F. dan Gibbs, P. A. 1992. *Production of Pullulan and Other Exopolysaccharides by Filamentous Fungi*. Critical Review in Biotechnological 12(3) : 279-298.
- Wessel dan Sietsma. 1979. *Wall Structure and Growth in Schizophylum commune*. In *Fungal Walls Growth*. Cambridge University Press.
- Willems, H.J. 1971. *The Survival of Fungal Sclerotia Under Adverse Environmental Conditions*. Biol. Rev., 46, 387.
- Zetelaki, K. dan Vas, K. 1968. *The role of aeration and agitation in the production of glucose oxidase in submerge culture*. Biotechnology, Bioeng. X : 45-59.