

Pengaruh Substitusi Terhadap Sukrosa Murni Oleh Nira Tebu Sebagai Sumber Karbon pada Fermentasi Produksi Dekstran
(*Effect of Substituting Pure Sucrose by Sugarcane Juice as Carbon Source on the Fermentation of Dextran Production*)

Triantarti dan Hendro Santoso M.
Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia

ABSTRACT

Sucrose is a carbon source for dextran fermentation and it is also used as a substrate of dextransucrase enzyme for producing dextran. Sugar cane juice containing sucrose as a main sugar, hence it is potential to be used as a cheap medium for dextran fermentation. This research was conducted to study the dextran fermentation using sugar cane juice as a medium. Two main experiments were done in this research. The first experiment has been carried out to determine the optimum medium composition for dextran fermentation using pure sucrose as a carbon source by variations on type and concentrations of yeast extract and buffering minerals. The second experiment was conducted to determine the effect of substituting pure sucrose in the fermentation medium by sugar cane juice. Fermentation was conducted at static condition, room temperature and 16-20 h fermentation time. The results showed that the optimum conditions for dextran fermentation using pure sucrose were sucrose 20%, yeast extract 0.75% (technical grade yeast extract was able to be used) and K_2HPO_4 or Na_2HPO_4 1% as minerals for buffering medium. Dextran production was able to reach 51 mg/g medium. The optimum medium composition and fermentation conditions were used as a control medium. In the second experiment, pure sucrose in the control medium was substituted by sugar cane juice with variations of 0, 50, 75 and 100%. Technical grade yeast extract was still added at 0.75%. The result showed that the higher sugar cane juice concentration the lower dextran production in the fermentation. On the other hand, medium fermentation containing 100% sugar cane juice without yeast extract was able to produce 45 mg dextran/g medium, which was not significantly different to dextran production from control medium. This experiment showed that sugar cane juice was a potential material as a cheap carbon source for dextran fermentation.

Keywords : Dextran, sugarcane juice, carbon source.

PENDAHULUAN

Dekstran adalah polimer dari glukosa yang manfaatnya sangat penting dalam industri farmasi sebagai bahan formulasi obat-obatan juga dalam industri makanan sebagai bahan pengental (Alsop, 1983 ; Barker *et al.*,1992 ; Yamaoka *et al.*,1995). Penelitian produksi dekstran memiliki prospek yang menjanjikan di masa yang akan datang mengingat saat ini kebutuhan dekstran sebagai bahan baku industri masih harus diimport. Dalam fermentasi dekstran, sukrosa adalah sumber karbon utama yang akan dikonversi menjadi dekstran oleh enzim *Dextransucrase*. Enzim ini dihasilkan oleh bakteri *Leuconostoc mesenteroides* (Alsop, 1983 ; Baker dan Ajongwen, 1990 ; Landon *et al.*, 1993). Nira tebu adalah bahan baku yang banyak mengandung sukrosa sehingga dapat digunakan sebagai sumber karbon yang murah. Pemanfaatan nira tebu sebagai sumber karbon merupakan upaya diversifikasi produk dari tebu yang memiliki nilai tambah. Selain sumber karbon, fermentasi produksi dekstran juga memerlukan ekstrak ragi sebagai sumber

nitrogen yang bermanfaat bagi pertumbuhan sel bakteri. Penggunaan sukrosa kristal dan ekstrak ragi sebagai sumber nutrisi pada fermentasi produksi dekstran dirasakan sangat mahal maka dalam penelitian ini dikaji bandingkan penggunaan nira tebu dan ekstrak ragi teknis masing masing sebagai nutrisi karbon dan nitrogen yang relatif lebih murah. Dibahas pula pengaruh mineral Kalium dan Natrium terhadap hasil fermentasi dekstran.

METODE

Alat dan Bahan Penelitian

Digunakan peralatan antara lain Fermenter, Laminar air flow, Centrifuge, Spektrofotometer, pH meter, Refraktometer dan peralatan gelas laboratorium. Bahan penelitian berupa Nira Perahan Pertama dari tebu varietas Ps 94-615. Dalam penelitian ini digunakan mikroba yang diperoleh dari ATTC yaitu *Leuconostoc mesenteroides* B 512 F, suatu jenis bakteri komersil yang saat ini sangat luas digunakan untuk memproduksi dekstran. Bahan kimia untuk penelitian ini adalah sukrosa, yeast ekstrak, tryptone, dikalium

hidrogen fosfat, agar, glukosa, natrium klorida, magnesium sulfat, thiamidum diklorida dan etanol.

Percobaan Tahap I : Optimasi media fermentasi dengan menggunakan sukrosa murni sebagai sumber karbon

a. Uji banding antara ER Teknis dan ER DIFCO (*Analytical grade*)

Dilakukan fermentasi dekstran dengan volume 50 ml. Komposisi medium terdiri dari sukrosa 20 % (b/v), K_2HPO_4 0,5 % dengan perlakuan dua macam ekstrak ragi (ER) yaitu ER "Analytical grade" (DIFCO) dan ER Teknis masing-masing dengan konsentrasi yang sama yaitu 0,75 % (b/v). Awal fermentasi dilakukan pada pH 7,4. Penambahan *pre culture* sebanyak 1 % (v/v). Fermentasi dilakukan dalam kondisi statis pada suhu ruang selama 24 jam dengan 4 kali ulangan. Parameter laboratorium yang diamati adalah pH dan kadar dekstran (Kobayashi *et al.*, 1985; Dubois, *et al.*, 1956).

b. Pengaruh variasi konsentrasi ER Teknis terhadap produksi dekstran

Fermentasi dekstran dengan volume 50 ml. Komposisi medium terdiri dari sukrosa 20 % (b/v), K_2HPO_4 0,5 % (b/v) dengan variasi perlakuan ER teknis pada konsentrasi 0,75; 1,0; 1,25 dan 1,5 % (b/v). Awal fermentasi dilakukan pada pH 7,4 dengan penambahan "pre culture" 5 % (v/v). Fermentasi dilakukan pada kondisi statis dan suhu ruang selama 24 jam dengan 4 kali ulangan. Parameter laboratorium yang diamati adalah pH dan kadar dekstran (Kobayashi *et al.*, 1985; Dubois, *et al.*, 1956).

c. Pengaruh K_2HPO_4 dan Na_2HPO_4 terhadap komposisi buffer medium pada fermentasi dekstran menggunakan ER Teknis

Dilakukan fermentasi dekstran dengan volume 50 ml dengan komposisi medium (b/v) terdiri dari ER Teknis 0,75 % dan variasi K_2HPO_4 dan

Na_2HPO_4 masing-masing 0,5; 1,0 dan 1,5 %. Awal fermentasi dilakukan pada pH 7,4 dengan penambahan *pre culture* 5 % (v/v). Fermentasi dilakukan dalam kondisi statis pada suhu ruang selama 30 jam dengan 4 kali ulangan. Parameter laboratorium yang diamati adalah pH dan kadar dekstran (Kobayashi, *et al.*, 1985; Dubois, *et al.*, 1956).

Percobaan Tahap II: Penggunaan substitusi nira tebu sebagai sumber karbon terhadap sukrosa murni dalam fermentasi dekstran

Fermentasi dengan volume 250 ml terdiri dari media dengan komposisi sukrosa 20 % (b/v), komposisi ER teknis dan K_2HPO_4 digunakan konsentrasi terbaik pada percobaan pendahuluan. Variasi substitusi nira tebu terhadap kristal adalah 0 %; 50 %; 75 % dan 100 % serta penggunaan nira. Tebu sebagai sumber karbon dan hanya K_2HPO_4 tanpa ER-teknis. Awal fermentasi dilakukan pada pH 7,4 dengan penambahan *pre culture* 5 % (v/v). Fermentasi dilakukan pada kondisi statis dan suhu ruang selama 16 - 20 jam dengan 4 kali ulangan. Parameter laboratorium yang diamati adalah pH dan kadar dekstran (Kobayashi, *et al.*, 1985; Dubois, *et al.*, 1956).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan Tahap I : Optimasi media fermentasi dengan menggunakan sukrosa murni sebagai sumber karbon

a. Uji banding antara ER Teknis dan ER DIFCO (*Analytical grade*)

Pada Tabel 1 disajikan perbandingan penggunaan ER Teknis dan ER DIFCO terhadap pengaruh produksi dekstran. Dari Tabel 1 tersebut dapat dilihat bahwa penggunaan ER Teknis sebesar 0,75% (b/v) menghasilkan dekstran rata-rata sebesar 52 mg/g sedangkan untuk ER DIFCO 0,75% (b/v), dekstran yang dihasilkan sebesar 59 mg/g. Dari uji banding ini tidak terlihat adanya perbedaan produksi dekstran yang dihasilkan diantara penggunaan kedua sumber nitrogen tersebut.

Tabel 1. Hasil Uji banding antara ER Teknis dan ER *DIFCO* (*Analytical grade*).

Perlakuan (% b/v)	Kadar dekstran (mg/g)		PH	
	Kisaran	Rerata	Kisaran	Rerata
ER Teknis 0,75	49 – 52	52	4,26 – 4,26	4,26
ER DIFCO 0,75	57 - 61	59	4,41 – 4,46	4,44

b. Pengaruh variasi konsentrasi ER Teknis terhadap produksi dekstran

Pada percobaan berikutnya adalah untuk mengetahui sejauh mana pengaruh variasi peningkatan konsentrasi ekstrak ragi teknis terhadap produksi dekstran. Hasil percobaan ini disajikan pada Tabel 2. Dari perlakuan variasi konsentrasi ekstrak ragi teknis yang diujikan tidak terlihat perbedaan yang nyata terhadap kadar dekstran yang dihasilkan. Pada konsentrasi ER Teknis 0,75% (b/v) dihasilkan kadar dekstran rerata sebesar 49 mg per g. Namun jika konsentrasi ER Teknis ditingkatkan hingga 1,5% (b/v) ternyata tidak menyebabkan meningkatnya kadar dekstran yang dihasilkan.

Pada konsentrasi ER Teknis 1,0 ; 1,25 ; 1,25 dan 1,5 % (b/v) masing masing dihasilkan kadar dekstran rerata sebesar 45 ; 44 dan 47 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi ragi teknis tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan kadar dekstran yang dihasilkan. Mengamati pH pada akhir fermentasi baik pada Tabel 1 maupun pada Tabel 2 menunjukkan rerata pH yang tidak jauh berbeda antara satu perlakuan dengan perlakuan lainnya yaitu berkisar antara pH 3,99 hingga pH 4,44. Penurunan pH terjadi disebabkan karena selama pertumbuhan sel dalam medium fermentasi, sukrosa sebagai sumber karbon akan dikonversi oleh enzim *Dextranucrase* menjadi dekstran dan fruktosa sedangkan sebagian lagi dari sukrosa akan masuk ke dalam sel kemudian dimetabolisme lebih lanjut menjadi laktat, asetat dan etanol (Dols *et al.*, 1997). Terbentuknya asam-asam tersebut diduga yang menyebabkan pH menjadi rendah. Menurut Sharmala dan Prasad (1995), derajat keasaman pada akhir fermentasi dimana kadar dekstran yang dicapai optimum yaitu terjadi pada pH 4,8. Namun demikian pada saat sukrosa pada medium habis dikonsumsi oleh mikroba dan ketika pertumbuhan sel berhenti, maka adanya enzim-enzim hasil sekresi ternyata dapat menghidrolisis dekstran yang dihasilkan sehingga menyebabkan kadar dekstran berkurang (Triantarti dan Duffour, 1998). Pada kondisi pH asam, pertumbuhan selpun sudah mulai menurun seiring dengan semakin menipisnya persediaan sukrosa dalam

medium (Dols *et al.*, 1997 ; Triantarti and Duffour, 1998).

c. Pengaruh di Kalium hidrogen fosfat dan di Natrium hidrogen fosfat terhadap kadar dekstran pada fermentasi dekstran menggunakan Ekstrak Ragi Teknis

Dalam penelitian terdahulu (Triantarti dan Santoso, 2004) menyatakan bahwa perlakuan kadar di Kalium hidrogen fosfat dalam medium fermentasi sebesar 0,5%; 1,0% dan 1,5% (b/v) berpengaruh terhadap tingkat pertumbuhan *L. mesenteroides*. Tingkat pertumbuhan optimum dicapai pada perlakuan 1,5% (b/v) namun kadar dekstran yang dihasilkan lebih rendah dari dua perlakuan lainnya. Hal ini merupakan kenyataan bahwa tingkat pertumbuhan mikroba yang optimum tidak selalu diikuti dengan kenaikan kadar dekstran. Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa semakin besar kadar di Kalium hidrogen fosfat dan di Natrium hidrogen fosfat namun tidak diikuti oleh adanya kenaikan kadar dekstran yang dihasilkan. Hal ini terjadi mungkin disebabkan oleh adanya enzim-enzim hasil sekresi menghidrolisis dekstran yang dihasilkan pada saat sukrosa dalam medium habis dikonsumsi (Triantarti dan Duffour, 1998). Kadar dekstran yang dihasilkan antara perlakuan di Kalium hidrogen fosfat dan di Natrium hidrogen fosfat tidak menunjukkan perbedaan (Tabel 3).

Percobaan Utama : Aplikasi Nira Tebu sebagai sumber karbon dalam fermentasi dekstran

Pada Tabel 4 disajikan hasil aplikasi nira tebu sebagai sumber karbon. Dalam percobaan ini digunakan sukrosa kristal 20% sebagai sumber karbon yang merupakan perlakuan kontrol bagi perlakuan nira tebu sebagai sumber karbon. Substitusi nira tebu yang digunakan untuk perlakuan dalam percobaan ini dengan komposisi 50%, 75% dan 100% nira tebu yang ditambahkan ke dalam substrat fermentasi. Untuk ke empat perlakuan ini masing-masing ditambahkan ER Teknis 0,75% dan di Kalium hidrogen fosfat 1%. Pada perlakuan selanjutnya diujikan pula penggunaan nira tebu 100% dan di Kalium hidrogen fosfat tanpa ER Teknis (Lihat Tabel 4).

Tabel 2. Pengaruh perlakuan variasi konsentrasi ekstrak ragi teknis terhadap produksi dekstran.

Perlakuan (%b/v)	Kadar dekstran (mg/g)		pH	
	Kisaran	Rerata	Kisaran	Rerata
ER Teknis 0,75	48 – 50	49	3,97 – 4,00	3,99
1,00	42 – 48	45	4,01 – 4,08	4,04
1,25	43 – 46	44	4,01 – 4,07	4,05
1,50	44 – 50	47	4,05 – 4,10	4,08

Tabel 3. . Pengaruh dikalium hidrogen fosfat dan dinatrium hidrogen fosfat terhadap kadar dekstran pada fermentasi menggunakan Ekstrak Ragi Teknis.

Perlakuan	Kadar dekstran (mg/g)		PH	
	Kisaran	Rerata	Kisaran	Rerata
K_2HPO_4				
0,5	44 - 47	45	3,95 – 4,0	3,98
1,0	50 - 55	52	4,19 – 4,21	4,20
1,5	46 - 47	47	4,28 – 4,31	4,29
Na_2HPO_4				
0,41	47 - 49	48	3,92 – 3,98	3,95
0,82	47 - 51	49	4,15 – 4,25	4,18
1,23	45 - 48	47	4,34 – 4,37	4,36

Tabel 4. Aplikasi Nira Tebu sebagai sumber karbon dalam fermentasi dekstran.

Perlakuan	Kadar dekstran (mg/g)		PH	
	Kisaran	Rerata	16 jam	20 jam
Nira 0	50 - 51	51	5,0	4,47
Nira 50	29 - 29	29	4,77	4,31
75	21 - 22	22	4,84	4,28
100	21 - 23	22	4,83	4,25
Nira + K	45 - 29	45	5,54	5,02

Hasil yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa ternyata penggunaan nira tebu sebagai sumber karbon tidak memperlihatkan produksi dekstran yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol sebagai pembanding (Sukrosa kristal 20% sebagai sumber karbon tanpa nira tebu). Hasil yang ditunjukkan oleh perlakuan nira tebu dengan substitusi 50%, 75% dan 100% masing-masing mampu memproduksi dekstran rata-rata sebesar 29 ; 22 dan 22 mg per g. Hal ini berarti produksi dekstran yang dihasilkan hanya sekitar 40 – 50% dari perlakuan kontrol sebagai

pembanding. Pada penelitian sebelumnya Triantarti dan Santoso (2002) menggunakan nira tebu sebagai sumber sukrosa namun kadar dekstran yang dihasilkan hanya sebesar 26,8 mg per g dengan sisa sukrosa pada akhir fermentasi yang masih cukup besar yaitu 40 mg per g sehingga diduga saat itu kondisi fermentasi belum optimal. Pada perlakuan penggunaan nira tebu 100% dan di Kalium hidrogen fosfat tanpa ekstrak ragi teknis dihasilkan kadar dekstran rata-rata sebesar 45 mg per g atau sekitar 88% dari kadar dekstran yang dihasilkan oleh perlakuan kontrol sebagai

pembandingan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya stagnasi pertumbuhan bakteri karena tidak ada ekstrak ragi dalam substrat sehingga penurunan pH menjadi lambat namun dengan masih adanya sel hidup dari *pre culture* yang dapat melakukan metabolisme untuk konversi sukrosa selama pembuatan *pre culture*, menyebabkan aktivitas enzim lebih optimum pada pH idealnya yaitu antara pH 5 – 5,5. Pada Tabel 4 dapat dilihat pula perlakuan yang menggunakan ekstrak ragi dimana sel dapat tumbuh dan menghasilkan asam sehingga pH turun lebih cepat pada jam fermentasi yang sama. Fenomena ini memberi harapan kemungkinan penggunaan nira tebu sebagai sumber sukrosa, dimana fermentasi dilakukan dengan cara terlebih dulu memproduksi enzim *Dextranase* melalui kultur media yang terdiri dari kristal sukrosa, ekstrak ragi teknis dan kalium hidrogen fosfat. Pada tahap selanjutnya digunakan nira tebu sebagai substrat fermentasi. Jumlah medium yang ditambahkan ke dalam substrat fermentasi harus proporsional tergantung dari aktivitas *Dextranase* yang dihasilkan dalam media “pre culture”. Dalam percobaan ini penambahan *pre culture* dilakukan sebesar 5% (b/v) terhadap substrat fermentasi dengan komposisi nira tebu 100% dan di Kalium hidrogen fosfat tanpa ekstrak ragi teknis. Pada perlakuan tersebut ternyata dihasilkan produksi dekstran sebesar rerata 45 mg per g hampir menyamai kadar dekstran pada perlakuan kontrol sebagai pembandingan yaitu rata-rata sebesar 51 mg per g (Tabel 4).

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut :

1. Penggunaan ER Teknis sebesar 0,75% (b/v) menghasilkan dekstran rata-rata sebesar 52 mg/g sedangkan untuk ER DIFCO 0,75% (b/v), dekstran yang dihasilkan sebesar 59 mg/g sehingga tidak terlihat adanya perbedaan terhadap dekstran yang dihasilkan diantara penggunaan kedua sumber nitrogen tersebut. Dari perlakuan variasi konsentrasi ekstrak ragi teknis lebih besar dari 0,75% (b/v) tidak terlihat perbedaan yang nyata terhadap kadar dekstran yang dihasilkan.
2. Semakin besar kadar di Kalium hidrogen fosfat dan di Natrium hidrogen fosfat namun ternyata tidak diikuti oleh adanya kenaikan kadar dekstran yang dihasilkan.
3. Kadar dekstran yang dihasilkan antara perlakuan di Kalium hidrogen fosfat dan di Natrium hidrogen fosfat tidak menunjukkan perbedaan.
3. Kondisi optimal untuk medium fermentasi dekstran dengan menggunakan media sukrosa murni adalah kadar sukrosa 20%, yeast ekstrak 0,75% dan K_2HPO_4 1% (atau bisa digunakan Na_2HPO_4). Kondisi fermentasi ini digunakan sebagai kontrol dan dapat menghasilkan dekstran sebesar 51 mg/g medium.
4. Pada substitusi media kontrol dengan nira tebu dimana yeast ekstrak tetap ditambahkan sebesar 0,75% sebagai sumber N, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi nira tebu di dalam medium semakin rendah kadar dekstran yang dihasilkan. Sebaliknya pada medium yang menggunakan 100% nira tebu tetapi tanpa penambahan sumber N dari luar (ekstrak ragi) dapat menghasilkan dekstran rata-rata 45mg/ g medium yang jumlahnya hampir sama dengan kadar dekstran yang dihasilkan oleh media kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Alsop R.M. 1983. Industrial production of dextrans. dalam M.E. Bushell (ed.), Process Industrial Microbiology **18** (Microbial polysaccharides). Elsevier, Amsterdam : 1-43.
- Barker P.E. dan N.J. Ajongwen. 1990. The production of the enzyme *Dextranase* using nonaerated fermentation techniques. *Biotechnology and Bioengineering*, **37** : 703-707.
- Barker C.Z., A.A. Brooks; R.Z. Greenly, J.M. Henis. 1992. *Encapsulation of biological material in non-ionic polymer beads*. US Patent No. 05089407.
- Dols M., W.Chraibi, MR Simeon, ND Lindley and PF Monsan. 1997. Growth and energetics of *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B 1299 during metabolism of various sugars and their consequences for dextranase production. *Applied and Environmental Microbiology* **63** (6) : 2159-2165.
- Dubois M., KA Gilles, JK Hamilto, PA Rebers and F Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars

- and related substances. *Analytical Chemistry* **28** (3) : 350 – 356.
- ICUMSA, 1994. *Report of Proceeding the 21 th Session International Commision for Uniform Methods of Sugar Analysis*.
- Keniry J S, Lee J B and V C Mahoney, 1969. Improvments in the dextran assay of cane sugar materials. *International Sugar Journal* **71** : 131 – 135.
- Kobayashi, M ; I Yokoyama and K Matsuda, 1985. Effectors differency modulating the dextransucrase activity of *Leuconostoc mesenteroides*. *Agricultur Biological Chemistry* **52** (12) : 3169-3171.
- Landon, R.S., I.H. Hudson, W. Kramer and C. Webb, 1993. A model of dextransucrase synthesis by *Leuconostoc mesenteroides*. **Trans IchemE 72 Part C**, December : 209-215.
- Landon, R.S. dan C. Webb, 1990. Separating enzyme (dextransucrase) production and product (dextran) synthesis within a traditional fermentation process. *Process Biochemistry*, **February** : 19-23.
- Michelena, G., A. Martinez, A. Bel, O. Almazan, 1999. *Technological optimization of dextransucrase enzyme production*. Proc. ISSCT Congress, New Delhi, India, Co-P6: 408-414.
- Shamala, T.R. dan Prasad, M.S., 1995. Preliminary studies on the production of high and low viscosity dextran by *Leuconostoc* spp. *Process Biochemistry* **30** (3): 237-241.
- Triantarti dan J.P.Dufour, 1998. Dextran formation and effect of Maillard Reaction Product in relation with medium viscosity during fermentation of *Leuconostoc mesenteroides* ATCC 10830. *Master Thesis*. University of Otago. Dunedin. New Zealand.
- Triantarti dan H Santoso, 2002. Nira tebu sebagai medium fermentasi untuk produksi dekstran. *Prosiding Seminar Naional Kimia IV*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya. : 193-197.
- Triantarti dan H. Santoso, 2004. Pengaruh penambahan jumlah inokulum dan di Kalium hidrogen fosfat pada fermentasi produksi dekstran. *Berita Biologi* **7** (3) : 109 – 115.
- Yamaoka, T. M. Kuroda, Y. Tabata, Y. Ikada, 1995. Body distribution of dextran derivatives with electric charges after intravenous administration. *International Journal of Pharmaceutics (Netherland)* **113** (16) : 149- 157.