

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Inulin merupakan salah satu karbohidrat simpanan terbanyak selain pati, yang dapat diperoleh dari akar maupun umbi berbagai tanaman. Inulin merupakan sumber yang baik untuk produksi *high fructose syrup* (HFS), pemanis rendah kalori dan mengandung ikatan β -(2-1) pada rantai linier polifruktosa linier yang memiliki unit glukosa terminal. Das *et al.*, (2019) melaporkan bahwa pembentukan fruktosa dari hidrolisis sempurna inulin adalah reaksi enzimatik inulinase langkah tunggal yang dapat memproduksi hingga 95% fruktosa murni. Produksi fruktosa melalui hidrolisis enzimatik inulin merupakan teknik yang ramah lingkungan. Hidrolisis enzimatik kini menjadi alternatif yang menjanjikan untuk produksi fruktosa skala industri.

Hidrolisis enzimatik inulin dilakukan dengan menggunakan enzim inulinase, yaitu enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan β -(2-1)-D-fruktosida pada inulin sehingga menghasilkan fruktosa rendah kalori. Inulinase dapat ditemukan pada tanaman maupun mikroorganisme. Namun, produksi inulinase dari tanaman dalam jumlah besar sulit dilakukan. Oleh karena itu, mikroorganisme menjadi sumber potensial untuk produksi inulinase, karena enzim ini dapat diinduksi selama fase pertumbuhan mikroorganisme. Dalam penelitian Gill *et al.* (2003), dilaporkan bahwa enzim inulinase biasanya dapat diproduksi dari mikroorganisme menggunakan metode induksi. Salah satu

mikroorganisme penghasil inulinase adalah *Actinomycetes*. Wannasutta *et al.* (2019) melaporkan bahwa beberapa *strain Actinomycetes* mampu menghasilkan inulinase, salah satunya adalah dari genus *Streptomyces* sp. Menurut Dilipkumar *et al.* (2013), *Streptomyces* sp. dapat memproduksi enzim inulinase menggunakan metode Solid State Fermentation (SSF).

Inulinase dari *Actinomycetes* dapat diproduksi menggunakan metode Solid State Fermentation (SSF) maupun Submerged Fermentation (SmF). SSF memiliki keunggulan dibandingkan SmF, antara lain menghasilkan enzim dalam jumlah lebih banyak dan dalam konsentrasi yang lebih pekat. Yupanqui-Mendoza *et al.* (2022) melaporkan bahwa SSF merupakan teknik terbaik dibandingkan SmF karena SSF menawarkan keuntungan seperti pemanenan produk lebih mudah serta dapat meminimalisir biaya yang dibutuhkan. Setelah seleksi proses fermentasi, formulasi media menjadi aspek penting dalam produksi enzim inulinase untuk menunjang pertumbuhan mikroorganisme secara optimal, sehingga meningkatkan hasil produksi enzim. Yazici *et al.* (2020) menyatakan bahwa produksi inulinase menggunakan metode SSF dapat dilakukan dengan berbagai macam substrat yang kemudian dioptimasi menggunakan pendekatan statistika.

Pendekatan konvensional satu faktor pada satu waktu tidak menjamin diperolehnya kondisi optimum untuk pertumbuhan mikroorganisme dan produksi enzim. Oleh karena itu, pendekatan statistik memungkinkan evaluasi berbagai faktor dan interaksinya secara efisien. Kalil *et al.* (2001) menerapkan

pendekatan praktis menggunakan metode perancangan faktorial Response Surface Methodology (RSM), yang memungkinkan analisis simultan berbagai faktor dan interaksinya dengan jumlah percobaan minimal.

Produksi inulinase mikroorganisme menggunakan pendekatan RSM telah dilaporkan dapat menghasilkan inulinase dalam jumlah tinggi dengan percobaan yang sedikit. Dilipkumar *et al.* (2011) melaporkan bahwa produksi inulinase dari *Streptomyces* sp. menggunakan metode SSF dengan substrat *press mud* menghasilkan enzim inulinase hingga 89 U/gds dengan pendekatan RSM. Komposisi nutrisi dalam media yang optimal untuk produksi inulinase adalah pada konsentrasi *yeast extract* 0,00274 g/gds, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,00011 g/gds, dan NH_4NO_3 0,00772 g/gds. Pada tahun 2013, Dilipkumar kembali melakukan penelitian serupa dengan mengganti substrat pada SSF dengan limbah kopra sehingga menghasilkan enzim inulinase hingga 131 U/gds. Pada penelitian tersebut, komposisi nutrisi dalam media yang digunakan untuk optimasi produksi inulinase adalah *soya bean cake* 0,05711 g/gds, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,00063 g/gds, dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,00772 g/gds. Penelitian Advinda *et al.* (2018) menyatakan bahwa mineral yang ditambahkan ke dalam media fermentasi dapat meningkatkan produksi metabolit seperti enzim inulinase. Penelitian Das *et al.* (2019) menunjukkan bahwa produksi inulinase melalui SSF dengan substrat berupa tebu, menghasilkan enzim inulinase sebanyak 8,57 U/gds. Faktor yang dioptimalkan meliputi inulin, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan masing-masing konsentrasi optimalnya, yaitu

0,1; 0,05; 0,002; dan 0,005 g/gds. Berbagai substrat fermentasi untuk produksi inulinase telah dilaporkan, seperti rebung pisang (Tippanavar *et al.*, 2024), campuran sekam padi dan rebung pisang (Hegde *et al.*, 2025), campuran dedak gandum dan dedak padi (Guo *et al.*, 2009), campuran dedak gandum dan sekam padi (Sheng *et al.*, 2009). Namun, belum ditemukan laporan yang secara spesifik mengevaluasi penggunaan sekam padi sebagai satu-satunya substrat dalam metode SSF untuk produksi inulinase dari bakteri *Actinomycetes*.

Optimalisasi produksi inulinase dari mikroba menggunakan pendekatan statistika berupa Response Surface Methodology telah banyak dilaporkan dalam literatur terbaru. Metode ini memungkinkan evaluasi variasi komposisi nutrisi dan interaksinya dalam media fermentasi secara simultan, sehingga kondisi optimum produksi inulinase dapat dicapai dengan jumlah percobaan yang minimal. Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi inulinase dari bakteri *Actinomycetes* menggunakan metode SSF dengan sekam padi sebagai substrat tunggal, yang diperkaya dengan inulin (sumber karbon), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (sumber mineral), dan pepton (sumber nitrogen), serta dioptimalkan menggunakan pendekatan Response Surface Methodology (RSM).

1.2 Perumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana pengaruh konsentrasi inulin, $M_gSO_4 \cdot 7H_2O$, dan pepton terhadap produksi enzim inulinase oleh *Actinomyces* strain R-0-6 dalam sistem fermentasi padat berbasis sekam padi?
- 1.2.2 Bagaimana membangun model hubungan antara variabel-variabel komposisi media fermentasi dengan produksi enzim inulinase menggunakan pendekatan Response Surface Methodology (RSM)?
- 1.2.3 Bagaimana menentukan komposisi media fermentasi yang optimal untuk menghasilkan produksi enzim inulinase maksimum berdasarkan model Response Surface Methodology (RSM)?
- 1.2.4 Bagaimana karakteristik kinetika enzim inulinase yang dihasilkan, ditinjau dari parameter K_m dan V_{max} menurut model Michaelis-Menten?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengkaji pengaruh konsentrasi inulin, $M_gSO_4 \cdot 7H_2O$, dan pepton terhadap produksi enzim inulinase dalam sistem fermentasi padat
- 1.3.2 Membentuk model matematis yang menggambarkan hubungan antara variabel-variabel tersebut dengan respon produksi enzim, menggunakan pendekatan Response Surface Methodology (RSM)
- 1.3.3 Menentukan kondisi optimum dari komposisi media fermentasi untuk menghasilkan aktivitas enzim inulinase tertinggi berdasarkan model Response Surface Methodology (RSM) yang diperoleh

1.3.4 Menentukan parameter kinetika Michaelis-Menten (K_m dan V_{max}) dari enzim inulinase yang dihasilkan

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam mengoptimalkan komposisi media fermentasi untuk produksi enzim inulinase dari *Actinomyces* dengan pendekatan statistik *Response Surface Methodology* (RSM).