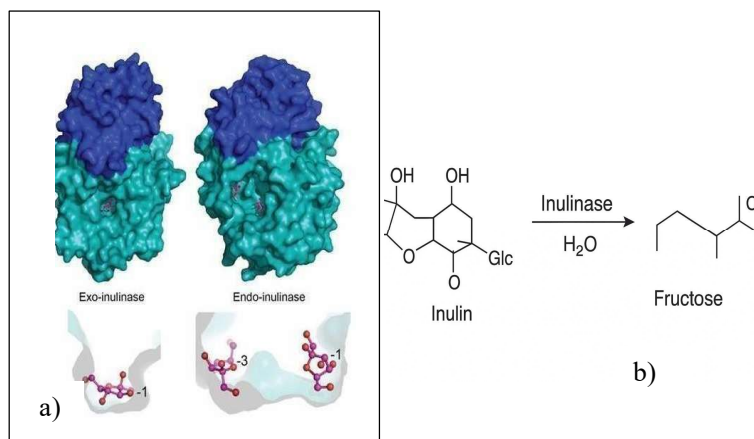


2.3 Enzim Inulinase

Enzim inulinase (EC 3.2.1.7.) merupakan enzim hidrolitik yang berperan dalam menguraikan inulin, yaitu fruktan dengan ikatan β -(2 $\rightarrow$ 1) glikosidik, menjadi fruktosa dan fruktooligosakarida (FOS) (Deepshikha *et al.*, 2026). Enzim inulin termasuk dalam kelompok glikosida hidrolase yang memiliki sifat khusus terhadap substrat fruktan dan berperan penting dalam proses biokonversi biomassa menjadi produk bernilai. Aktivitas enzim inulinase menghasilkan dua produk utama, yaitu fruktosa dan *fruktooligosakarida* (FOS) yang banyak dimanfaatkan dalam industri pangan dan kesehatan. Fruktosa digunakan sebagai pemanis alami, sedangkan FOS berfungsi sebagai prebiotik yang mendukung pertumbuhan mikrobiota usus (Deepshikha *et al.*, 2026).



Gambar 2. 3 (a) Struktur terikat ligan dari eksoinulin dan endoinulin; 7(b) Rumus Kimia pemecahan enzim inulinase menjadi fruktosa (Ernitis, 2019).

Enzim inulinase bekerja dengan memutus ikatan β -(2 $\rightarrow$ 1)-

glikosidik pada molekul inulin melalui reaksi hidrolisis yang melibatkan molekul air. Berdasarkan pola pemotongannya, inulinase dibedakan menjadi dua tipe, yaitu eksoinulinase yang melepaskan unit fruktosa dari ujung rantai, serta endoinulinase yang memotong ikatan di bagian tengah rantai sehingga menghasilkan fruktooligosakarida dengan panjang rantai yang bervariasi (Deepshikha *et al.*, 2026). Representasi struktur enzim serta mekanisme pemecahan inulin dapat diamati pada Gambar 2.2. Gambar 2.2 memperlihatkan interaksi antara enzim dan substrat serta perbedaan pola kerja antara eksoinulinase dan endoinulinase dalam menghasilkan produk hidrolisis berupa fruktosa dan FOS. Sebagian besar enzim inulinase menunjukkan aktivitas optimum pada kondisi asam dengan pH berkisar 4,5–5,5 dan suhu antara 50–65°C (Braz da Silva *et al.*, 2023).

Produksi enzim inulinase umumnya memanfaatkan kapang dari genus *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Rhizopus* melalui proses fermentasi (Deepshikha *et al.*, 2026). Umbi kentang, meskipun bukan sumber utama inulin, tetapi menyediakan pati dan nutrisi yang mendukung pertumbuhan kapang. Umbi kentang juga dilaporkan memiliki kandungan inulin 7% (Mangguali *et al.*, 2024), sehingga dapat berperan sebagai substrat alternatif dalam eksplorasi kapang inulinolitik. Kapang inulinolitik yang tumbuh pada substrat umbi kentang tetap memiliki kemampuan menghasilkan enzim inulinase. Seleksi isolat dilakukan menggunakan media ISM (*Inulin Screening Medium*) yang mengandung inulin sebagai sumber karbon. Aktivitas enzim yang dihasilkan diuji secara kuantitatif menggunakan

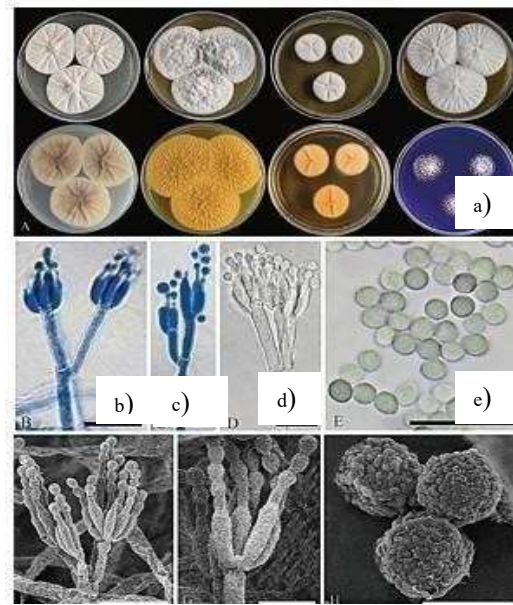
substrat inulin. Aktivitas enzim yang dihasilkan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti pH dan suhu serta karakteristik mikroorganisme penghasilnya (Braz da Silva *et al.*, 2023).

2.4 Kapang Inulinolitik

Kapang inulinolitik merupakan kelompok fungi mikroskopis berspora yang secara fisiologis mampu menghasilkan enzim inulinase (Braz da Silva *et al.*, 2023). Kapang dari genus *Aspergillus* dan *Penicillium* telah banyak dilaporkan sebagai penghasil inulinase dengan aktivitas tinggi, sehingga menjadi kandidat utama dalam aplikasi industri pangan dan bioteknologi (Yazici *et al.*, 2021). Isolat kapang lokal dari substrat agro-industri menunjukkan potensi adaptif yang kuat dalam menghasilkan inulinase, sehingga eksplorasi biodiversitas kapang inulinolitik masih menjadi bidang penelitian yang menjanjikan (Oliveira *et al.*, 2022).

Kemampuan fisiologis kapang inulinolitik dalam menghasilkan enzim inulinase menjadi dasar untuk dilakukan pengujian aktivitas enzim tersebut pada media selektif yang mengandung inulin. Uji kualitatif aktivitas inulinase dapat dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada medium selektif berbasis inulin ISM (*Inulin Screening Medium*). Terbentuknya daerah transparan di sekitar koloni menunjukkan adanya hidrolisis inulin oleh enzim inulinase yang disekresikan ke luar sel, sehingga menghasilkan fruktosa larut air (Dion *et al.*, 2022). Mekanisme hidrolisis inulin berlangsung ketika enzim inulinase memutus ikatan β -(2 $\rightarrow$ 1) glikosidik pada rantai inulin. Exo-

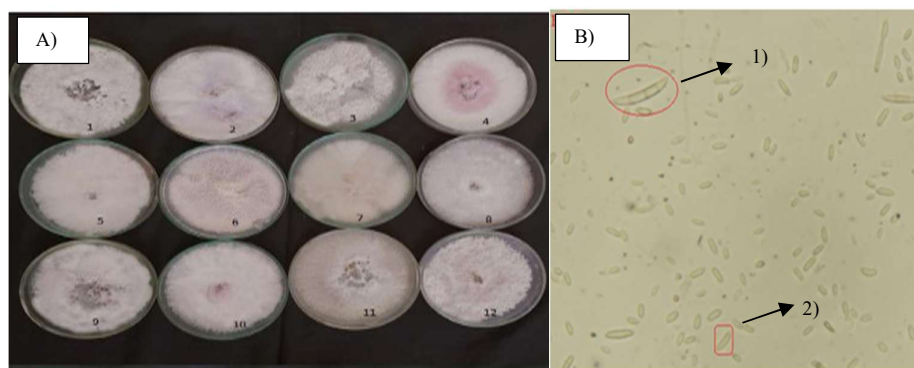
inulinase melepaskan fruktosa dari ujung non-reduksi, sedangkan endo-inulinase memutus ikatan secara acak di dalam rantai sehingga menghasilkan fruktosa bebas dan FOS (Corrado *et al.*, 2021).



Gambar 2. 4 Kapang *Penicillium tibetense* pada media (dari kiri ke kanan, baris atas: (a) CYA ; (b) Media YES; (c) Media DG18; (d) Media MEA; (e) Konidia *Penicillium* (Liang *et al.*, 2025).

Kapang inulinolitik seperti *Penicillium tibetense* menunjukkan ciri khas pertumbuhan berbeda pada tiap media kultur, sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 2.3. Variasi tekstur dan warna koloni pada media seperti CYA (*Czapek Yeast Extract Agar*), MEA (*Malt Extract Agar*), dan CREA (*Creatine Sucrose Agar*) digunakan untuk mendeteksi morfologi koloni serta aktivitas metabolik, termasuk kemampuan produksi enzim seperti inulinase (Liang *et al.*, 2025). Secara umum, identifikasi morfologi *Penicillium* dilakukan dengan mengamati karakter makroskopis berupa diameter koloni,

tekstur, warna konidia hijau kebiruan, pigmen larut, eksudat, serta warna reverse pada media standar seperti CYA dan MEA. Karakter mikroskopis ditandai oleh konidiofor bercabang membentuk pola khas “penicillus” dengan percabangan *monoverticillate*, *biverticillate*, hingga *terverticillate*, serta *fialid silindris* yang menghasilkan konidia bulat oval berantai (Visagie *et al.*, 2014, hlm. 344–346).



Gambar 2.5 Morfologi *Fusarium oxysporum* (A) Morfologi Makroskopis; (B) Morfologi Mikroskopis perbesaran 1000x, 1) Makrokonidia, 2) Mikrokonidia (Pal *et al.*, 2020).

Kapang inulinolitik juga ditemukan pada *Fusarium*, yang dikenal memiliki kemampuan menghasilkan enzim inulinase dan menunjukkan ciri morfologi khas baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*), morfologi koloni *Fusarium oxysporum* sangat bervariasi, namun ciri dominan yang paling sering diamati adalah warna putih-ungu pucat dengan tekstur miselia *cottony* atau *floccose*. Pigmen violet hingga magenta gelap biasanya tampak meresap ke dalam medium, meskipun beberapa isolat juga dapat menghasilkan pigmen oranye pucat atau sclerotia berwarna biru kehitaman dan violet. Variasi pigmen menunjukkan bahwa warna ungu/violet merupakan karakter makroskopis yang paling konsisten