BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik beberapa kesimpulan. Pertama, pH dan suhu inkubasi yang optimum dari α-amilase *Aspergillus oryzae* untuk menghasilkan aktivitas yang tinggi terjadi pada pH 6,5 dan suhu 30° C yaitu 0,197 unit/ml larutan enzim. Kedua, waktu inkubasi *Aspergillus oryzae* terbaik untuk menghasilkan aktivitas tertinggi α-amilase sebesar 0,08 unit/ml larutan enzim adalah 24 jam. Ketiga, penambahan senyawa $CaCl_2.2H_2O$ pada media pertumbuhan *Aspergillus oryzae* akan memberikan aktivitas α-amilase yang tertinggi yaitu 0,174 unit/ml larutan enzim. Keempat, penambahan senyawa $CaCl_2$ yang merupakan sumber kation Ca^{2+} dan anion Cl^- akan memberikan aktivitas tertinggi pada α-amilase yaitu 0,081 unit/ml larutan enzim.

B. SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh maka perlu adanya penelitian lebih lanjut yang mengkaji :

a. Optimasi konsentrasi dan jenis substrat.
b. Pengaruh konsentrasi senyawa ion yang ditambahkan pada larutan enzim untuk mengetahui konsentrasi optimum yang menghasilkan aktivitas α-amilase yang tinggi.
c. Fungsi lain dari anion dan kation senyawa logam terutama Ca^{+} terhadap aktivitas α-amilase.

DAFTAR PUSTAKA

Bender, M.L, Raymond J.B., and Makoto K., 1984. *The Bioorganic Chemistry of Enzymatic catalysis.* A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons. New York.

Cheung, W.Y., 1982. *Calcium and Cell Function.* Academic Press. New York.

Crueger, W and Arneliese Crueger, 1990. *Biotechnology, a Text Book of Industrial Microbiology.* 2nd ed., Sinaver Associates. Inc., Sunderland, USA.

Crus, R and Y.K Park. 1982. *Production of Fungal α-Galactosidase and its Application to the Hydrolysis of Galactoligosacharides in Soy bean Milk.* J.Food Sci 47 : 1973 - 1975

Dwidjoseputro, D. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi.* Penerbit Djambatan. Jakarta

Eveleigh, D.K., 1981. *The Microbiological Production of Industrial Chemicals in Industrial Microbiology and The Advent of Genetic Engineering.* Scientific American, W.H Freeman and Comp., San Fransisco.

Forgaty, W.M and Catherine T. Kelly. 1980. *Amylases, Amyloglucosidases and related Glucoamylases ini Economic Microbiology and Bioconversions.* A.H Rose Academic Press. London.

Frost, G.M., and Moss, P.A., 1987. *Production of Enzymes by Fermentation,* Biotechnology. VCH, Verlagsgesel-lschaft mBh. Federal Republik of Germany

Ganrong. Xu., 1990. Cloning in *Bacillus subtilis* of Termostabel & Alkalophilic Amylase from a Thermophilic *Bacillus sp. Annual Report of IC Biotech.* Vol. 13. International Centero Cooperative research in Biotechnology. Japan. Faculty of Enginering, Osaka University. Japan.

Harada, T. 1931. *Preparation of Aspergillus oryzae enzyme.* Industri Engine Chemistry. Faculty of Enginering Osaka University. Japan.

Hatori, Y. 1961. Studies on Amylolytic Enzymes Produced by *Endomyces* sp. *Agr. Biol. Chem. Japan*, Vol.25, No. 10, p. 737-747.

Ismadi,M. 1986. *Pengujian Enzim (Enzyme Assay) dan Kinetik Reaksi yang Dikatalise Enzyme.* Fakultas Pasca Sarjana UGM. Yogyakarta.

Ismeini, Y., dan Oyan, s., 1987. *Fermentasi Bahan Makanan Tradisional*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.

Reed, G.,1975. Carbohidrases. *Enzymes in food Processing, 2nd*. Academic Press. New York.

Lehninger, A., 1990. *Dasar-Dasar Biokimia*. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Nelson, Somolgy, 1985. *Mempelajari Kemungkinan Pemanfaatan Ampas tapioka sebagai Media untuk Memproduksi Enzim Amyloglukosidase oleh Kapang yang Diisolasi dari Singkong (Manihot sp)*. Bogor: Fakultas Tekhnik Pertanian IPB.

Piniwati. 1988. *Pengaruh Komposisi Media, suhu, dan Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Amiloglukosidase dari Aspergillus Berspora Hijau, Hitam, dan Penicillium Berspora Hijau, Biru*. Bogor: Fakultas Tekhnologi Pertanian IPB,.

Rahayu, K., 1990. *Petunjuk Laboratorium Analisa enzim Bahan Pangan*. PAU-Pangan dan Gizi. Proyek Peningkatan Perguruan Tinggi UGM. Yogyakarta

Raper, K.B., and Dorothy Fennel. *The Genus Aspergillus*. Robert E. Kriger Company, Huntington.

Smith, J.E, and John A. Pateman. 1977. Geneticts and Physiology of *Aspergillus. The British Mycological Society Symposium*, Series No. 1.Academic Press, Inc. (London) LTP. London.

Sudarmadji, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Pusat antar Universitas UGM. Yogyakarta.

Tjitrosoma, Sutami. 1989. *Mikologi Dasar*. Departemen P & K Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi PAU Ilmu hayat IPB. Bogor.

Tranggono dan Sutardi, 1989. *Biokimia dan Tekhnologi Pasca Panen*. PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.

Volk and Wheeler. 1984. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Erlangga. Jakarta.

Way, Daniel I.C and Charles L. Cooney. 1979. *Fermentation and Enzyme Technology*. John Wiley & Sons,Inc. Canada.

Wedhastri, S., 1990. " Perilaku *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* pada kadar glukosida sianogen Biji Koro Benguk (*Mucuna pruriens*)". Tesis Magister Sains tak diterbitkan. Fakultas Pasca Sarjana Pertanian UGM. Yogyakarta.

Winarno, F.G., 1995. *Enzim Pangan*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Whitaker, R.J., 1972. *Principles of Enzymology for The Food Sciences*. Marcel Dekker Inc., New York.

Yabuki, M., N. Oro, K. Hashino, and S. Fukui. 1927. Rapid Induction of α-amylase by Non growing Mycelia of *Aspergillus oryzae*. *Appl.enviro. microbial* 6(2).

Lampiran 1

Tabel 6. Pengaruh pH dan Suhu Inkubasi Terhadap Konsentrasi Gula Reduksi

No	Suhu (° C)	PH	Konsentrasi gula reduksi (mg/ml)
1	20	6	0,077
2		6,5	0,08
3		7	0,02
4		7,5	0,072
5		8	0,083
6	30	6	0,087
7		6,5	0,098
8		7	0,081
9		7,5	0,029
10		8	0,035
11	40	6	0,0321
12		6,5	0,029
13		7	0,035
14		7,5	0,0325
15		8	0,015
16	50	6	0,016
17		6,5	0,02
18		7	0,027
19		7,5	0,029
20		8	0,015

Lampiran 2

Tabel 7 Pengaruh Waktu Inkubasi *Aspergillus oryzae* Terhadap Konsentrasi Gula reduksi

No	Waktu Inkubasi (jam)	Konsentrasi Gula Reduksi (mg/ml)
1	12	0,0185
2	24	0,0399
3	36	0,035
4	48	0,0185
5	60	0,01485
6	72	0,0146

Tabel 8. Pengaruh Jenis Senyawa Ion (Hidrat) Terhadap Konsentrasi Gula Reduksi

No	Kombinasi Ion	Konsentrasi Gula Reduksi (mg/ml)
1	$CaCl_2.2H_2O$	0,087
2	$CaSO_4.2H_2O$	0,047
3	$MgCl_2.6H_2O$	0,0321
4	$MgSO_4.7H_2O$	0,02485
5	Kontrol	0,017

Tabel 9. Pengaruh Jenis Senyawa Ion (Anhidrat) Terhadap Konsentrasi Gula Reduksi

No	Kombinasi Ion	Konsentrasi Gula Reduksi (mg/ml)
1	$CaCl_2$	0,04
2	$CaSO_4$	0,034
3	$MgCl_2$	0,027
4	$MgSO_4$	0,0245
5	Kontrol	0,017

Lampiran 3

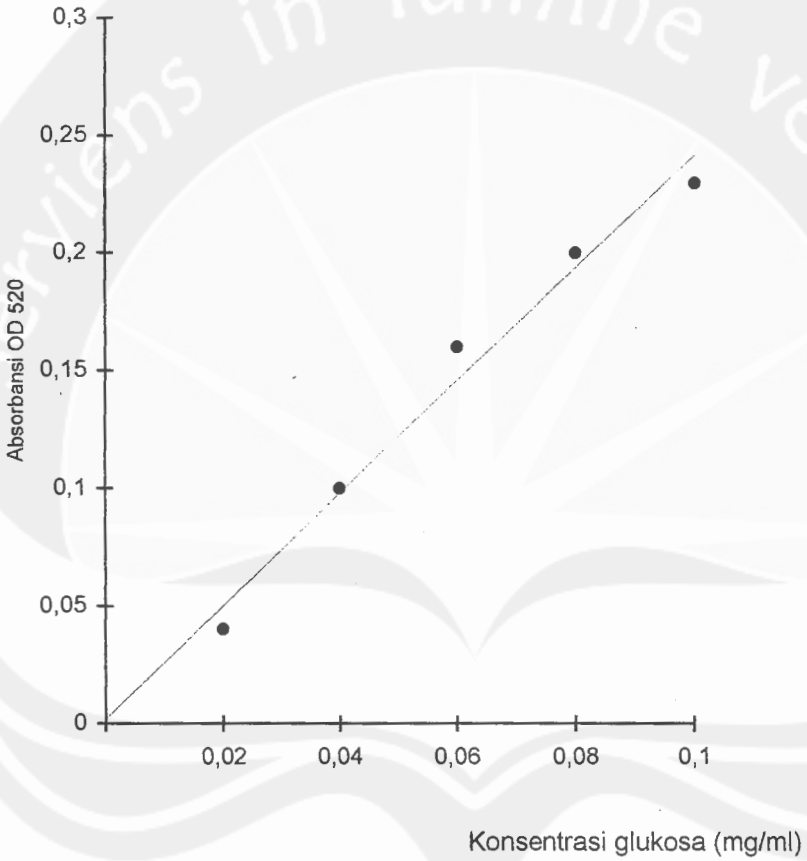
Tabel 10. Daftar Nilai Absorban pada Berbagai Konsentrasi Glukosa (Standart Glukosa)

Konsentrasi Glukosa (mg/ml)	Nilai Absorbans (OD)
0,02	0,04
0,04	0,1
0,06	0,16
0,08	0,2
0,1	0,23
$\Sigma = 0,3$	$\Sigma = 0,73$

$$\text{Absorbansi standart} = \frac{0,73}{0,3}$$

$$= 2,43$$

Lampiran 4



Gambar 13. Grafik Kurva standart Larutan Glukosa

Lampiran 5

A. Komposisi Media Taoge Agar (Frost & Moss, 1987)

- Gula pasir 60 gr
- Taoge ekstrak 1 liter
- Bakto agar 20 gr

Komposisi Ekstrak Taoge

- Taoge 100 gr
- Aquades 1 liter

B. Komposisi Dasar Medium Cair (Ganrong, 1990)

1. *Soluble starch* 20 gr
2. Pepton 5 gr
1. Ekstrak Yeast 2 gr
4. KH_2PO_4 1 gr
5. $MgSO_4.7H_2O$ 0,5 gr
6. $CaCl_2.2H_2O$ 7,3 gr

C. Komposisi reagensia uji gula reduksi metode Somolgy-Nelson (Nikunni, 1986 dalam Piniwati, 1988).

Reagen A :

- Sodium Karbonat Anhidrat 25 gr
- Sodium Potasium tartarat 25 gr
- Sodium Bikarbonat 20 gr
- Sodium Sulfat anhidrat 200 gr

Komponen-komponen diatas dilarutkan dengan aquades sampi volume 1 liter

Reagen B :

Tembaga Sulfat Pentahidrat ($CuSO_4.5H_2O$) sebanyak 30 gr dilarutkan dalam 200 ml aquades yang mengandung 4 tetes asam sulfat pekat.

Reagen C :

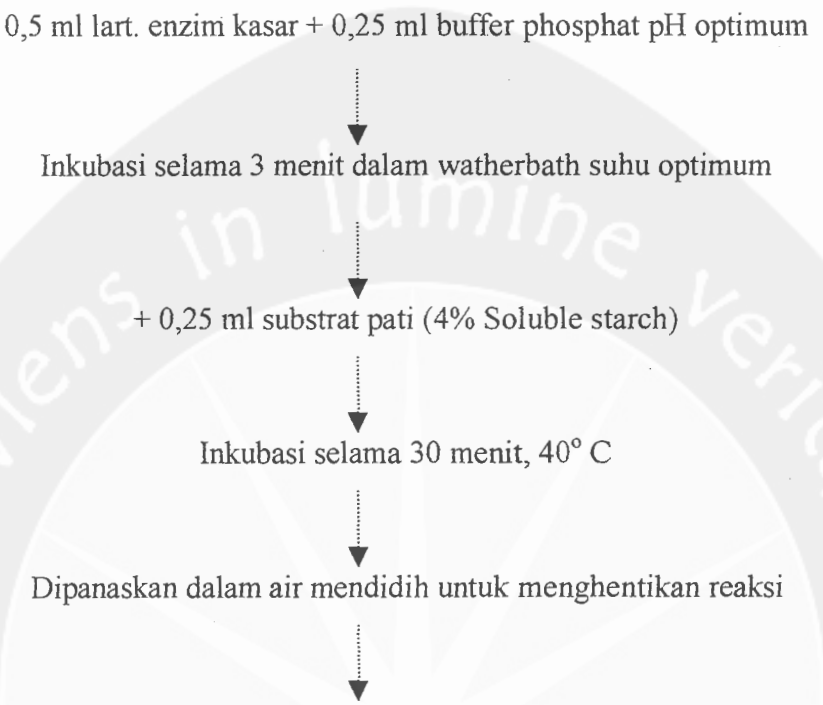
1. Ammonium Molibdat sebanyak 25 gr dilarutkan dalam 450 ml aquades yang mengandung 21 ml asam sulfat pekat.
2. Disodium Hidrogen Arsenat heptahidrat ($Na_2HSO_4.7H_20$) sebanyak 3 gr dilarutkan dalam 25 ml aquades

Kedua larutan dicampur sampai volumenya mencapai 500 ml. Campuran ini kemudian disimpam dalam botol coklat selama semalam pada suhu 37-40 ° C.

Reagen D :

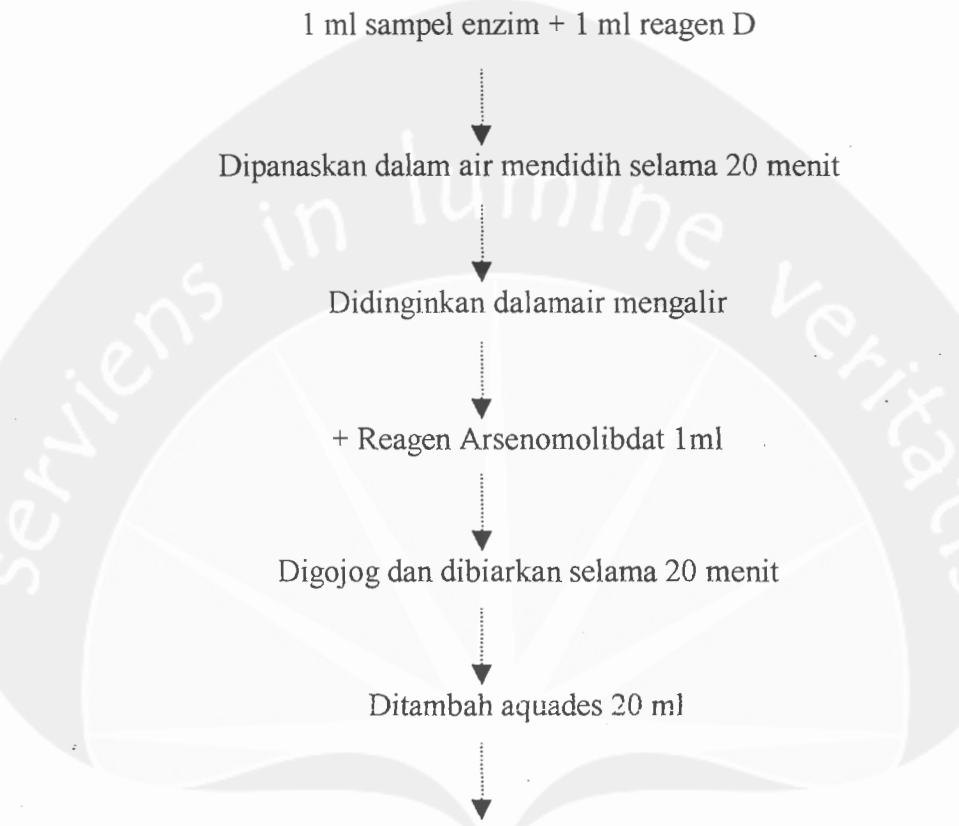
Merupakan campuran dari 25 ml reagen A dengan 1 ml reagen B. campuran ini baru dibuat apabila akan dipergunakan.

Lampiran 6



Gambar 14. Bagan Prosedur Kerja Uji Kuantitatif Enzim α-Amilase (Ganrong, 1990)

Lampiran 7



Gambar 15. Bagan Prosedur Kerja Uji Gula Reduksi cara Nelson-Somolgy (Piniwati, 1988)

Lampiran 8. Foto Biakan *Aspergillus oryzae*

Gambar 16. Foto Biakan murni *Aspergillus oryzae* dalam medium agar padat

Gambar 17. Foto Biakan murni *Aspergillus oryzae* pada medium cair setelah penggojogan.

Lampiran 9. Analisis Statistika

SUHU	pH	UL_1	UL_2	UL_3	RERATA
20	6.0	0.155	0.1550	0.1540	0.15467
20	6.5	0.159	0.1630	0.1540	0.15867
20	7.0	0.035	0.0390	0.0360	0.03667
20	7.5	0.144	0.1520	0.1360	0.14400
20	8.0	0.167	0.1740	0.1610	0.16733
30	6.0	0.174	0.1740	0.1740	0.17400
30	6.5	0.197	0.1970	0.1960	0.19667
30	7.0	0.163	0.1630	0.1630	0.16300
30	7.5	0.082	0.0580	0.0330	0.05767
30	8.0	0.070	0.0690	0.0700	0.06967
40	6.0	0.064	0.0640	0.0640	0.06400
40	6.5	0.049	0.0580	0.0660	0.05767
40	7.0	0.074	0.0700	0.0660	0.07000
40	7.5	0.066	0.0640	0.0640	0.06467
40	8.0	0.030	0.0300	0.0300	0.03000
50	6.0	0.032	0.0326	0.0313	0.03197
50	6.5	0.040	0.0400	0.0400	0.04000
50	7.0	0.054	0.0540	0.0540	0.05400
50	7.5	0.058	0.0740	0.0400	0.05733
50	8.0	0.030	0.0300	0.0300	0.03000

Analysis of Variance Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
SUHU	4	20 30 40 50
pH	5	6.0 6.5 7.0 7.5 8.0
UL	3	1 2 3

Number of observations in data set = 60
Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: ACTIVITY

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
PERL	19	0.19208856	0.01010992	181.87	0.0001
SUHU	3	0.10312549	0.03437516	618.39	0.0001
pH	4	0.01450439	0.00362610	65.23	0.0001
SUHU*pH	12	0.07445868	0.00620489	111.62	0.0001
Error	40	0.00222351	0.00005559		
Corrected Total	59	0.19431207			

R-Square	C.V.	Root MSE	ACTIVITY Mean
0.988557	8.184260	0.007456	0.09109833

Duncan's Multiple Range Test for variable: ACTIVITY

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 40 MSE= 0.000056

Number of Means	2	3	4
Critical Range	.00550	.00578	.00597

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	SUHU
A	0.13227	15	20
A			
A	0.13220	15	30
B	0.05727	15	40
C	0.04266	15	50

Duncan's Multiple Range Test for variable: ACTIVITY

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 40 MSE= 0.000056

Number of Means	2	3	4	5
Critical Range	.00615	.00647	.00668	.00682

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	pH
A	0.11325	12	6.5
B	0.10616	12	6.0
C	0.08092	12	7.0
C			
C	0.08092	12	7.5
D	0.07425	12	8.0

LAMBDA-KAPPA 13:45 Saturday, Jul 08, 2000

Duncan's Multiple Range Test for variable: ACTIVITY

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 40 MSE= 0.000056

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Critical Range	.0123	.0129	.0134	.0136	.0139	.0141	.0142	.0143	.0144	.0145

Number of Means	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Critical Range	.0146	.0147	.0147	.0148	.0148	.0148	.0149	.0149	.0149

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	PERL
A	0.19667	3	30 6.5
B	0.17400	3	30 6.0
B			
C B	0.16733	3	20 8.0
C B			
C B	0.16300	3	30 7.0
C			
C	0.15867	3	20 6.5
C			
C D	0.15467	3	20 6.0
D			
D	0.14400	3	20 7.5
E	0.07000	3	40 7.0
E			
E	0.06967	3	30 8.0
E			
F E	0.06467	3	40 7.5
F E			
F E	0.06400	3	40 6.0
F E			
F E	0.05767	3	30 7.5
F E			
F E	0.05767	3	40 6.5
F E			
F E	0.05733	3	50 7.5
F			
F	0.05400	3	50 7.0
G	0.04000	3	50 6.5
G			
G	0.03667	3	20 7.0
G			
G	0.03197	3	50 6.0
G			
G	0.03000	3	40 8.0
G			
G	0.03000	3	50 8.0

LAMBDA-KAPPA 13:45 Saturday, Jul 08, 2000

INKUBASI	UL_1	UL_2	UL_3	RERATA
12	0.037	0.040	0.0330	0.036667
24	0.080	0.080	0.0798	0.079933
36	0.070	0.070	0.0700	0.070000
48	0.037	0.033	0.0400	0.036667
60	0.028	0.030	0.0310	0.029667
72	0.029	0.029	0.0296	0.029200

Analysis of Variance Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
INKUBASI	6	12 24 36 48 60 72
UL	3	1 2 3

Number of observations in data set = 18
Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: ACTIVITY

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
INKUBASI	5	0.00733332	0.00146666	324.32	0.0001
Error	12	0.00005427	0.00000452		
Corrected Total	17	0.00738759			

R-Square	C.V.	Root MSE	ACTIVITY Mean
0.992654	4.522440	0.002127	0.04702222

LAMBDA-KAPPA 13:45 Saturday, Jul 08, 2000

Duncan's Multiple Range Test for variable: ACTIVITY

NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 12 MSE= 4.522E-6

Number of Means	2	3	4	5	6
Critical Range	.00378	.00396	.00408	.00414	.00418

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	INKUBASI
A	0.07993	3	24
B	0.07000	3	36
C	0.03667	3	48
C			
C	0.03667	3	12
D	0.02967	3	60
D			
D	0.02920	3	72

LAMBDA-KAPPA 13:45 Saturday, Jul 08, 2000

KOMB_ION	UL_1	UL_2	UL_3	RERATA
$CaCl_2$.2H	0.182	0.174	0.165	0.17367
$CaSO_4$.2H	0.094	0.095	0.093	0.09400
$MgCl_2$.6H	0.064	0.064	0.064	0.06400
$MgSO_4$.7H	0.054	0.049	0.046	0.04967
Kontrol	0.034	0.034	0.034	0.03400

Analysis of Variance Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
KOMB_ION	5	$CaCl_2$.2H $CaSO_4$.2H $MgCl_2$.6H $MgSO_4$.7H Kontrol
UL	3	1 2 3

Number of observations in data set = 15
Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: ACTIVITY

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
KOMB_ION	4	0.03664360	0.00916090	510.83	0.0001
Error	10	0.00017933	0.00001793		
Corrected Total	14	0.03682293			

R-Square	C.V.	Root MSE	ACTIVITY Mean
0.995130	5.098046	0.004235	0.08306667

Duncan's Multiple Range Test for variable: ACTIVITY
NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 10 MSE= 0.000018

Number of Means	2	3	4	5
Critical Range	.00769	.00804	.00827	.00838

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	KOMB_ION
A	0.17367	3	$CaCl_2$.2H
B	0.09400	3	$CaSO_4$.2H
C	0.06400	3	$MgCl_2$.6H
D	0.04967	3	$MgSO_4$.7H
E	0.03400	3	Kontrol

LAMBDA-KAPPA 13:45 Saturday, Jul 08, 2000

KOMB_ION	UL_1	UL_2	UL_3	RERATA
$CaCl_2$	0.081	0.081	0.081	0.081000
$CaSO_4$	0.068	0.068	0.068	0.068000
$MgCl_2$	0.054	0.058	0.049	0.053667
$MgSO_4$	0.049	0.049	0.049	0.049000
Ktrl	0.033	0.035	0.034	0.034000

Analysis of Variance Procedure
Class Level Information

Class	Levels	Values
KOMB_ION	5	$CaCl_2$ $CaSO_4$ $MgCl_2$ $MgSO_4$ Ktrl
UL	3	1 2 3

Number of observations in data set = 15
Analysis of Variance Procedure

Dependent Variable: AKTV_ENZ

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
KOMB_ION	4	0.00390307	0.00097577	228.70	0.0001
Error	10	0.00004267	0.00000427		
Corrected Total	14	0.00394573			

R-Square	C.V.	Root MSE	AKTV_ENZ Mean
0.989187	3.615387	0.002066	0.05713333

Duncan's Multiple Range Test for variable: AKTV_ENZ
NOTE: This test controls the type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate

Alpha= 0.05 df= 10 MSE= 4.267E-6

Number of Means	2	3	4	5
Critical Range	.00375	.00392	.00403	.00409

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	KOMB_ION
A	0.08100	3	$CaCl_2$
B	0.06800	3	$CaSO_4$
C	0.05367	3	$MgCl_2$
D	0.04900	3	$MgSO_4$
E	0.03400	3	Ktrl