




| PRODUKSI DAN KARAKTERISASI ENZIM FITASE DARI YEAST <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> RG-PK20 | |
|--|--|
|  Peneliti |  Ringkasan Eksekutif |
| <p>Ketua : Seprianto, S.Pi, M.Si (0309098702)</p> <p>Anggota Febriana Dwi Wahyuni, S.Pd, M.Si (0323029101) Dr.Titta Novianti S.Si, M.Biomed (0318116801) Mahasiswa Ela Hayati (20190308007) Feren Stevany Wiranata (20200308001) Anwar Shafrial Irsyad (20200308008) Irmawati Ningsih (20200308012) Sisilia Gabriela Mutiara M (20200308010)</p> | <p>Pakan ternak memiliki kandungan nutrisi, vitamin dan mineral yang berguna bagi pertumbuhan dan kesehatan hewan. Akan tetapi, bahan baku pakan ternak dari biji – bijian, terdapat senyawa antinutrisi asam fitat. Peningkatan nilai nutrisi pada pakan ternak bisa dilakukan dengan cara menurunkan kadar asam fitat dengan penambahan enzim fitase yang berasal dari yeast <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (<i>R. mucilaginosa</i>) RG-PK20. Adanya potensi probiotik pada <i>R.mucilaginosa</i> perlu dikembangkan sehingga dapat dimanfaatkan secara optimum dalam penyerapan nutrisi pakan ternak. Tujuan penelitian ini untuk melakukan optimasi dan karakterisasi enzim fitase untuk mendapatkan suhu dan pH optimum dalam produksi. Penelitian ini diawali dengan prekultuur <i>R. mucilaginosa</i>, peremajaan dan pewarnaan sel, uji kualitatif aktivitas enzim fitase, produksi fitase ekstrak kasar, uji aktivitas fitase ekstrak kasar, pembuatan standar fosfat, dan analisis data dengan <i>Friedman Test</i>. Hasil dari penelitian ini, <i>R. mucilaginosa</i> RG-PK20 mampu menghasilkan enzim fitase berdasarkan hasil uji kualitatif dengan terbentuknya zona bening (<i>clear zone</i>). Zona bening paling besar terbentuk berada pada suhu 30°C. Aktivitas fitase optimum pada suhu 25°C dengan pH 4 dengan aktivitas fitase mencapai nilai tertinggi yaitu 0,95088 U/mL. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait kondisi optimum dalam produksi fitase pada skala industri.</p> <p>Kata kunci: Asam Fitat, Enzim Fitase, Pakan ternak, <i>R. mucilaginosa</i> RG-PK20.</p> |
| | <div style="background-color: #A9C9E0; padding: 5px; display: flex; align-items: center;">  HKI dan Publikasi </div> |

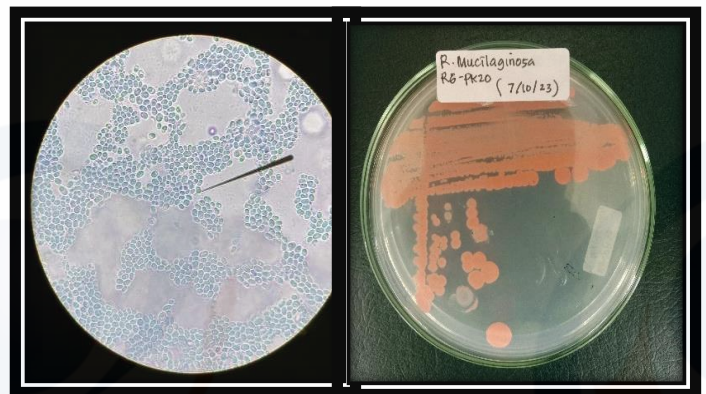
| | |
|--|--|
| | |
|--|--|

|  Latar Belakang |  Hasil dan Manfaat |
|---|--|
| <p>Antinutrisi adalah senyawa-senyawa kimia yang banyak terdapat pada pakan ternak, dimana senyawa tersebut dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada ternak yang mengkonsumsinya. Antinutrisi tersebut mampu menghambat pertumbuhan pada ternak dengan cara mengganggu kesehatan pencernaan serta mengurangi penyerapan nutrisi. Senyawa antinutrisi yang sering ditemukan, antara lain adalah Protein inhibitor (penghambat protease), goitrogen, nekaloid, oksalat, fitat, tanin, HCN dan gosipol. Salah satu senyawa antinutrisi yang memiliki peran dalam mengganggu kesehatan ternak adalah asam fitat (Bidura, 2017). Asam fitat diketahui mampu berperan sebagai chelate (fitat berikatan kompleks dengan ion-ion logam) pada Magnesium (Mg), kalsium (Ca), Natrium (Na), besi (Fe), seng (Zn) dan Kalium (K), serta protein dan karbohidrat (Selle et al, 2006). Pembentukan kompleks chelate fitat tersebut dapat menghambat penyerapan mineral pada hewan. Kadar asam fitat pada bahan baku pakan dikatakan berbahaya pada nilai persentase yang berbeda-beda seperti pada jagung 0,29%,</p> | <p>Hasil</p> <p><i>R. mucilaginosa</i> RG-PK20 merupakan yeast yang dilaporkan sebagai probiotik. Yeast ini diisolasi dari ragi alami fermentasi kismis. Pada penelitian ini, media yang digunakan untuk melakukan prekultur <i>R. mucilaginosa</i> adalah media YPD (<i>Yeast Potatto Dextrose</i>) dan merupakan media yang digunakan untuk menumbuhkan yeast (Rubiati, 2021). Prekultur ini bertujuan untuk meremajakan sel yeast yang akan diuji aktivitasnya. Sampel yang digunakan adalah isolat yeast <i>R. mucilaginosa</i> RG-PK20 dari stok gliserol 50% yang disimpan pada suhu -86. Hasil prekultur mengalami perubahan warna pada media, yang semula berwarna kuning bening, berubah menjadi kuning keruh kemerahan</p>  <p>Gambar 1. <i>R. mucilaginosa</i> RG-PK20 kultur cair</p> <p>Sel murni kemudian di amati secara mikroskopis dan koloni diamati secara makroskopis. Hasil dari peremajaan sel didapati koloni murni yang</p> |

pada bekatul 82%, Gandum 74%, soy bean meal 61% dan corn gluten meal 4,5% (Bhakti, 2018). Kandungan asam fitat dalam bahan pakan dapat diatasi melalui berbagai macam usaha metode pengolahan. Proses pengolahan tersebut antara lain adalah perendaman, perkecambahan, perebusan, pemasakan dan fermentasi. Selain itu, penurunan kadar asam fitat juga dapat dilakukan dengan penambahan enzim fitase yang berasal dari mikroorganisme. Penelitian yang dilakukan oleh (Nururrozi & Indrajulianto, 2016).

Fitase adalah enzim yang mampu menghidrolisa asam fitat menjadi inositol dan asam fosfat. Fitase telah banyak diisolasi dari berbagai mikroorganisme seperti yeast (Santoso & Sajidan, 2013). Salah satu jenis mikroorganisme dari kelompok yeast yang telah dilaporkan potensial menghasilkan enzim fitase adalah *R.mucilaginosa* (Ruthada et al, 2021). *Rhodotorula* sp adalah yeast uniseluler yang ditandai dengan tingkat pertumbuhan yang tinggi diberbagai habitat. Beberapa spesies dari *Rhodotorula* merupakan organisme saprofit yang dapat diisolasi dari sumber lingkungan seperti tanah, air tawar, air laut, laut dingin, fermentasi susu, salad buah, fermentasi buah dan sayur.

sudah dilakukan peremajaan sebanyak 3x dengan warna khas berasal dari pigmen karotenoid. Kemudian pada pewarnaan sel oleh metilen blue didapati bahwa karakteristik dari sel *R. mucilaginosa* RG-PK20 yang di amati secara makroskopis memiliki tekstrur sedikit gembur dan kental, memiliki tepian bulat utuh, permukaan yang kusam, warna permukaan pink pucat dengan bulatan di tengah berwarna merah muda dan bentuk koloni bulat.



Gambar 2. Bentuk sel dan koloni *R. mucilaginosa* RG-PK20

Uji Kualitatif Aktivitas Enzim Fitase

Uji kualitatif aktivitas enzim bertujuan untuk melihat keberadaan dari enzim fitase. Keberadaan enzim fitase ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitaran hasil streak pada media PSMA Gambar 3 menunjukkan terdapat pembentukan dari zona bening (*clear zone*) disekitar koloni *R. mucilaginosa* RG-PK20 yang menandakan adanya aktivitas enzim fitase.

Penelitian yang dilakukan oleh (Wulansari et al, 2023) melaporkan bahwa pada *R. mucilaginosa* RG-PK20 telah dideteksi gen penyandi fitase dengan terbentuknya pita DNA yang tebal ukuran ± 500 bp, namun dalam penelitian tersebut tidak dilakukan isolasi enzim fitase. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh (Seprianto et al, 2023) melaporkan bahwa yeast *R. mucilaginosa* RG-PK20 berhasil diisolasi dari proses fermentasi kismis, dimana dari yeast tersebut enzim fitase juga berhasil diisolasi. Namun, dalam penelitian tersebut optimasi dan karakterisasi enzim fitase belum dilakukan. Adanya penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa *R. mucilaginosa* memiliki potensi sebagai probiotik, sehingga dapat digunakan dalam meningkatkan penyerapan nutrisi pada ternak, terutama dalam menurunkan kadar asam fitat pada pakan ternak.

Tujuan penelitian mengkarakteristik enzim fitase yang berasal dari yeast *R. mucilaginosa* RG-PK20 sebagai pemecah masalah antinutrisi dan untuk mendapatkan optimasi dan karakterisasi enzim fitase dari parameter suhu dan pH optimum



Gambar 3. Aktivitas fitase ditandai dengan zona hambat (*Clear zone*) pada media PSMA

Produksi Fitase Ekstrak Kasar

Produksi fitase ekstrak kasar menggunakan media PSMB (*Phytase Selective Medium Broth*). Produksi fitase ekstrak kasar pada perlakuan jam 48, 96, 144 dan 192, perlakuan suhu 25, 28 dan 30, perlakuan pH 3,4,5 dan 6 dan menggunakan kontrol dengan media YPD tanpa Na-fitat. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pada waktu, suhu dan pH mana aktivitas enzim tertinggi dihasilkan. Hasil perhitungan absorbansi sampel dengan menggunakan mesin spektrofotometer dengan panjang gelombang 700nm dan metode duplo

Hasil pengukuran menunjukkan Konsentrasi tertinggi pada suhu 25°C yaitu pada pH 4 di jam 96 dengan nilai konsentrasi sebesar 5,42007 mg/ml. Konsentrasi tertinggi pada suhu 28°C yaitu pada pH 5 di jam 48 dengan nilai konsentrasi sebesar 4,486763 mg/ml. Konsentrasi tertinggi pada suhu 30°C yaitu pada nilai kontrol di jam 192 dengan nilai konsentrasi sebesar 5,027647 mg/ml



Metode

| | |
|---|---|
| <p>Prekultur <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> PK-S20</p> <p>Isolat <i>R. mucilaginosa</i> RG-PK20 dari stock gliserol 50% dikultur terlebih dahulu dalam erlenmeyer 300 mL yang mengandung 100 mL medium cair <i>Yeast Extract–Peptone–Dextrose</i> (YPD), dan diinkubasi pada suhu 28 °C selama 2 hari (48 jam) dalam <i>shaking waterbath</i> dengan kecepatan 120 rpm. Kultur yeast yang baik ditandai dengan media yang berwarna keruh kemerahan.</p> <p>Uji kualitatif aktivitas enzim fitase</p> <p>Uji ini menggunakan Media Selektif Agar PSMA (Phytase Selective Medium Agar). Media PSMA dibuat berdasarkan acuan (Ogunremi et al, 2015) yakni dengan komposisi 15 g glukosa, 5 g NH₄NO₃, 0,5 g KCl, 0,5 g MgSO₄, 0,01 g FeSO₄, 0,01 g MnSO₄, 2 g CaCl₂, 20 g microbial agar dan 5 g Na-fitat dalam 1000 ml akuades. Selanjutnya derajat keasaman media diatur menjadi pH 5. Ambil single-koloni pada kultur yang ditumbuhkan di media PDA kemudian di streak ke media PSMA satu kuadran dan di buat 2x pengulangan. Setelah itu inkubasi selama 192 jam pada suhu 25 °C, 28°C, dan 30 °C. Aktivitas enzim fitase ditandai dengan adanya zona bening disekitaran streak koloni yeast</p> | <p>Uji Aktivitas Fitase Ekstrak Kasar</p> <p>Aktivitas fitase (U/mL) di ukur dengan pembuatan standar fosfat dengan konsentrasi(ppm) 1,5ppm, 2ppm, 2,5ppm, 3ppm, 3,5ppm dan 4ppm. Didapati hasil dari pembuatan standar fosfat dengan nilai regresinya sebesar 0,9941. Setelah itu, dilanjutkan dengan perhitungan aktivitas enzim.</p> <p>Aktivitas enzim fitase pada suhu 25°C memiliki waktu optimal di jam ke 96 dengan pH 4 sebesar 0,95088 U/mL. Sedangkan aktivitas terendah ada pada jam ke 96 dengan pH 3 dengan aktivitas fitase sebesar 0,35131 U/mL dan kontrol yang memiliki pola grafik yang cenderung naik. Aktivitas enzim fitase pada suhu 28°C memiliki waktu optimal pada waktu panen jam ke 48 dengan pH 5 dengan aktivitas fitase sebesar 0,78715 U/mL. Sedangkan aktivitas terendah ada pada jam ke 96 dengan pH 3 dengan aktivitas fitase sebesar 0,03642 U/mL, dan kontrol yang memiliki pola grafik yang cenderung naik. Aktivitas enzim fitase pada suhu 30°C memiliki waktu optimal di jam 144 dengan pH 5 dengan aktivitas fitase sebesar 0,771394 U/mL. Sedangkan aktivitas terendah ada di jam ke 144 pada pH 3 dengan aktivitas fitase sebesar 0,112912U/mL, dan kontrol yang memiliki pola grafik yang cenderung naik.</p> <p>Uji friedman test adalah metode yang digunakan untuk menguji apakah terdapat perbedaan signifikan di antara beberapa kelompok data yang bersifat berpasangan atau berulang. Friedman biasanya digunakan ketika kita memiliki satu kelompok subjek atau objek dan ingin melihat perubahan dalam suatu</p> |
|---|---|

| | |
|--|--|
| | <p>variabel terkait di berbagai waktu atau kondisi. Uji Friedman cocok digunakan ketika data tidak memenuhi asumsi normalitas dan variasi antar kelompok tidak merata setelah melakukan normality test seperti pada data penelitian ini, dimana data tidak terdistribusi normal yang dilihat pada saat melakukan uji normality test Hasil dari tes statististik “ friedman test “ menunjukkan nilai sig. sebesar $0,000 < 0,05$. Maka hipotesis yang diambil adalah ada perbedaan rata rata dari hasil aktivitas enzim dengan perlakuan suhu dan pH, yang artinya keputusannya terima H1 dan tolak H0.</p> |
| <p>Kesimpulan</p> <p><i>R. mucilaginosa</i> RG-PK20 mampu menghasilkan enzim fitase dari uji kualitatif menggunakan media PSMB dengan perlakuan suhu 25°C, 28°C dan 30°C menunjukkan adanya zona bening. Produksi enzim fitase ekstrak kasar diperoleh aktivitas optimum di suhu 25°C pada pH 4 dengan nilai yaitu 0,95088 U/mL pada panen di 96 jam.</p> | <p>Ucapan terimakasih</p> <p>Penelitian lanjutan bisa dilakukan, yaitu pengujian antara pengukuran reaksi suhu pada aktivitas enzim dan juga reaksi antara pH pada aktivitas enzim. Pengujian tersebut dilakukan masing-masing secara terpisah. Hal ini bertujuan untuk mengetahui spesifikasi respon antara inhibitor dan kofaktor dengan aktivitas enzim yang dihasilkan</p> |

DAFTAR PUSTAKA

- Anggitasari S, Sjojfan O, Irfan D, Djunaidi H. Pengaruh Beberapa Jenis Pakan Komersial Terhadap Kinerja Produksi Kuantitatif Dan Kualitatif Ayam Pedaging Effect Of Some Kinds Of Commercial Feed On Quantitative And Qualitative Production Performance Of Broiler Chicken. Vol. 40. 2016.
- Arinanti M, Studi S- P, Gizi I, Ilmu Kesehatan F, Respati Yogyakarta U, Raya Tajem Km J, Et Al. Ilmu Gizi Indonesia Potensi Senyawa Antioksidan Alami Pada Berbagai Jenis

- Kacang The Potential Of Natural Antioxidant Compounds On Various Types Of Beans. 2018;
- Chanklan Ruthada. Mucilaginosa Zml2 - 31 และสมบัติ ในการปลดปล่อยฟอสเฟต Optimal Conditions For Phytase Activity From Epiphytic Yeast *Rhodotorula Mucilaginosa* Zml2 - 31 And Their Properties For Phosphate Liberation. 2021
- Cowieson Aj, Wilcock P, Bedford Mr. Super-Dosing Effects Of Phytase In Poultry And Other Monogastrics. Vol. 67, World's Poultry Science Journal. 2011. P. 225–35.
- Demirkan E, Baygin E, Usta A. Topraktan Fitat Hidrolize Eden *Bacillus* Sp. 'Lerin Taranmasi{Dotless} Ve Fitaz Üretimi Üzerine Bazi{Dotless} Besinsel Ve Fiziksel Faktörlerin Optimizasyonu. Turkish Journal Of Biochemistry. 2014;39(2):206–14.
- Deonisia Arlinta 2023. Meningkatkan Kualitas Pakan Ternak Lokal Berbasis Teknologi.
- Ephraim Makondo Z, Reuben Kazwala R, Simon Mwakapuja R, Malakalinga J, Moser I, Tanner M. Nontuberculous Mycobacteria Infections In Katavi Rukwa Ecosystems. Vol. 4, Journal Of Agricultural Science And Technology B. 2014.
- Hidayat C. Utilization Of Phytase To Overcome Phytic Acid In Broiler Diet. Indonesian Bulletin Of Animal And Veterinary Sciences. 2017 Feb 2;26(2):057.
- Indratmi D, Pengajar S, Agronomi J, Pertanian F, Peternakan D. Pengembangan Teknologi Produksi Khamir *Rhodotorula* Sp. Sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit Antraknosa Pada Cabai [Internet]. Vol. 7, Maret 2012. Available From: [Http://Ejournal.Umm.Ac.Id/Index.Php/Gamma/Issue/View/238/Showtoc](http://Ejournal.Umm.Ac.Id/Index.Php/Gamma/Issue/View/238/Showtoc)
- Janatlan, Janidamarakot S, Tir Lamitthong Bagian Vajichaluchaweewattiya Fakultas Sains Universitas Kasetart 2021.
- Jayanegara A, Ridla M, Laconi Eb, Komponen Pada Pakan N. • Buku Ajar • Peternakan 2019.
- Nakamura Y, Fukuhara H, Sano K. Secreted Phytase Activities Of Yeasts. Biosci Biotechnol Biochem. 2000;64(4):841–4.
- Nururrozi Dan Soedarmanto Indarjulianto A. Fitat Dan Fitase : Dampak Pada Hewan Ternak. 2016. Available From: [Http://Jiip.Ub.Ac.Id/](http://Jiip.Ub.Ac.Id/)
- Ogunremi Or, Sanni Ai, Agrawal R. Probiotic Potentials Of Yeasts Isolated From Some Cereal-Based Nigerian Traditional Fermented Food Products. J Appl Microbiol. 2015;119(3):797–808.
- Sari Novita Kristanti, Primawestri Annisa Maria, Aisyah Nurchita Dewi, Firdha Ayu Trianie. *Rhodotorula Rubra* (*Rhodotorula Mucilaginosa*). 2012
- Saropah A And Ma. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi Dari Bekatul. Alchemy. Vol. 2 (1): 34-45. 2012
- Seprianto S, Dwi Wahyuni F, Novianti T. Evaluasi Aktivitas Antimikroba Dan Kemampuan Probiotik Serta Uji Enzimatis Dari Yeast *Rhodotorula Mucilaginosa* Galur Pk-S20. 2023
- Seprianto S, Wahyuni Fd, Novianti T. Isolation And Identification Of Yeast From Fermented Raisins Extract As Probiotic Candidates. In: The 4th International Conference On Life Science And Technology (Icolist). Aip Publishing; 2023. P. 020093.
- Wulansari W, Dwi Wahyuni F, Novianti T. Optimization Of The Annealing Temperature Specific Primers For Detection Of Phytase Gene From *Rhodotorula Mucilaginosa* Rg-Pk20 [Internet]. Vol. 7, Indonesian Journal Of Biotechnology And Biodiversity. 2023.

Yao Mz, Zhang Yh, Lu Wl, Hu Mq, Wang W, Liang Ah. Phytases: Crystal Structures, Protein Engineering And Potential Biotechnological Applications. *J Appl Microbiol.* 2012;112(1):1–14.

Yu P, Wang Xt, Liu Jw. Purification And Characterization Of A Novel Cold-Adapted Phytase From *Rhodotorula Mucilaginosa* Strain Jmuy14 Isolated From Antarctic. *J Basic Microbiol.* 2015 Aug 1;55(8):1029–39