

HIDROLISIS PATI GARUT SECARA ENZIMATIS UNTUK PEMBENTUKAN SIKLODEKSTRIN

Erliza Noor¹⁾

ABSTRACT

GARUT STARCH HIDROLYSIS BY ENZIMATIS FOR FORMING CYCLODEXTRIN

Modified starch has important role in chemical, cosmetic, pharmaceutical, and food industries. Cyclodextrin was prepared based on garut starch using starch hydrolyzing enzyme namely α -amylase, β -amylase, pullulanase and glucoamylase. Cyclization to form cyclodextrin was obtained using CGTase. The highest concentration of cyclodextrin was obtained by glucoamylase and CGTase concentration of 150 unit/g substrate which was 81.11g.l⁻¹ in 90 minutes.

Keywords: α -amylase, β -amylase, cyclodextrin, CGT-ase, garut starch, glucoamylase, pullulanase

ABSTRAK

Pati termodifikasi memiliki peranan penting dalam bidang kimia, kosmetik, farmasi dan industri pangan. Siklodekstrin menggunakan pati garut dibuat dengan menggunakan enzim penghidrolisis pati yaitu α -amilase, β -amilase, pullulanase dan glukoamilase. Siklisasi pembentukan siklodekstrin dilakukan dengan menggunakan enzim CGTase. Perolehan siklodekstrin tertinggi didapatkan pada enzim glukoamilase dengan konsentrasi enzim CGTase 150 Unit per g substrat sebesar 81,11g.l⁻¹ dengan lama reaksi 90 menit.

Kata kunci: α -amilase, β -amilase, cyclodextrin, CGT-ase, glukoamilase, pati garut, pullulanase

PENDAHULUAN

Garut (*Maranta arundinacea*) merupakan salah satu produk yang diusulkan dalam program diversifikasi pangan nasional dalam rangka peningkatan dan ketahanan pangan. Selain penggunaan langsung dari pati untuk produk pangan, pati juga digunakan untuk keperluan berbagai industri termasuk industri pangan.

Pati dapat dimodifikasi baik secara kimia, fisika, maupun enzimatis, sesuai dengan kebutuhan spesifik suatu industri. Pati termodifikasi memiliki kemampuan mengikat air yang jauh lebih banyak daripada pati alami, serta mempunyai sifat rekat yang lebih besar.

Siklodekstrin merupakan salah satu jenis pati termodifikasi yang dihasilkan secara biokimiawi oleh enzim siklodekstrin glikosiltransferase (CGTase). Siklodekstrin dapat digunakan dalam berbagai industri, seperti

pada industri kimia, farmasi, pangan dan kosmetika. Hal ini karena siklodekstrin mempunyai sifat enkapsulasi, termasuk peningkatan kelarutan dan perlindungan komponen kimia yang labil dari pengaruh oksidasi (Laga, Darwis 2001). Produk siklodekstrin yang dihasilkan dipengaruhi oleh jumlah amilosa dalam pati (Whistler *et al.* 1984).

Hingga saat ini belum banyak publikasi yang mengungkapkan mekanisme proses likuifikasi oleh enzim terutama dalam proses produksi siklodekstrin. Dalam rangka pengembangan produksi siklodekstrin, perlu dipelajari mekanisme enzim pemecah pati ini, sehingga siklodekstrin dapat diproduksi secara optimum. Pada penelitian ini siklodekstrin diproduksi dari pati umbi garut dengan enzim pemecah pati yaitu α -amilase, β -amilase, pullulanase dan glukoamilase. Penelitian ini bertujuan membandingkan kemampuan beberapa enzim hidrolase itu dalam memecah ikatan α -1,4-glikosidik dan α -1,6-glikosidik yang terdapat dalam struktur pati pada berbagai konsentrasi pati.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku utama yang digunakan pada penelitian adalah umbi garut yang diperoleh dari Sukabumi. Bahan-bahan lain yang diperlukan adalah Amilosa standar, D-Glukosa, CGT-ase, Siklodekstrin standar, enzim α -amilase, glukoamilase, β -amilase, dan pullulanase. Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Metode

Tahap I: Pembuatan Pati Garut

¹⁾ Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknik Pertanian (FATETA) Institut Pertanian Bogor (IPB), Kampus Darmaga Bogor 16680

* Penulis korespondensi: (+62251) 8621974

Pati garut dari umbi diekstraksi dengan metode ekstraksi semi-basah. Pada tahap ini juga dilakukan analisis proksimat terhadap pati garut yang meliputi kadar air dan kadar abu (AOAC 1995), kadar serat, kadar lemak, kadar protein, kadar pati, kadar amilosa, dan amilopektin (Apriantono *et al.* 1989). Selain itu dianalisis titik gelatinisasi awal dan gelatinisasi akhir serta viskositas pati.

Tahap II: Penentuan Konsentrasi Enzim dan Lama Reaksi Proses Likuifikasi Pati Garut

Pati dengan konsentrasi 10% (b/v) dilarutkan dalam *buffer* fosfat 0,2 M pH 6,0. Larutan pati dipanaskan hingga di atas suhu gelatinisasi maksimum kemudian ditambahkan enzim hidrolase (α -amilase, β -amilase, pullulanase, dan glukoamilase) masing-masing sebesar 0,5; 1,0 dan 1,5% (b/b) bobot kering pati.

Tahap III: Penentuan Konsentrasi CGT-ase dan Lama Reaksi Pembentukan Siklodekstrin.

Pati terlikuifikasi terbaik dari tahap II ditambahkan enzim CGT-ase masing-masing 50, 100, dan 150 unit per gram substrat kemudian ditambahkan etanol 10% (v/v).

Tahap IV: Penentuan Konsentrasi Substrat Pati terhadap Perolehan Siklodekstrin.

Pati dengan berbagai tingkat konsentrasi (10, 15, 20 dan 25%), dilarutkan dalam *buffer* fosfat. Larutan substrat kemudian dilikuifikasi dengan menggunakan enzim terbaik hasil penelitian tahap II. Larutan terlikuifikasi selanjutnya ditambahkan enzim CGT-ase dengan konsentrasi dan waktu terbaik hasil penelitian tahap III. Selanjutnya pada larutan ditambahkan etanol 10% (v/v).

Tahap V: Identifikasi Siklodekstrin

Identifikasi jenis siklodekstrin (α , β atau γ) dilakukan dengan menggunakan HPLC (Lee, Kim 1992).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ciri Bahan Baku

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode basah dan diperoleh rendemen sekitar 10%, tepatnya sebesar 9,07%. Rendemen yang relatif kecil ini disebabkan oleh tingginya kadar air pada umbi garut segar yaitu sebesar 75,77%.

Tabel 1 Kandungan Pati Garut

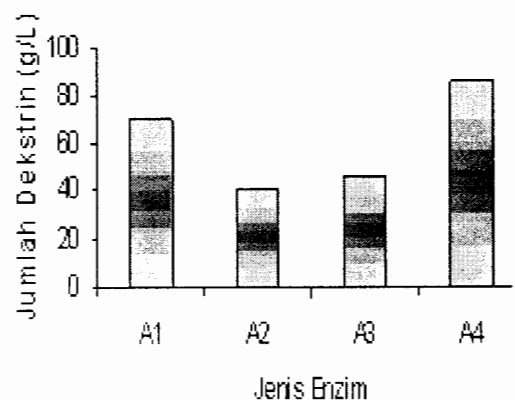
Parameter	Kandungan (%)
Kadar Air	4,73
Kadar Abu	0,46
Kadar Lemak	0,78
Kadar Serat	0,49
Kadar Protein	0,15
Kadar Pati	90,31
Kadar Amilosa	21,07

Pada kadar pati sebesar 90,31% tersebut, sebesar 21,07±0,16% adalah kadar amilosa dan sisanya hampir 80% adalah amilopektin (Tabel 1). Pati garut mengandung amilosa sebesar 20–21% (Villamajor, Jurkema 1996; Satin 2001), kandungan amilopektinnya sebesar 79% (Satin 2001). Kandungan amilosa inilah yang akan mempengaruhi perolehan siklodekstrin karena amilosa memiliki rantai lurus dengan percabangan yang lebih sedikit.

Konsentrasi Enzim dan Lama Reaksi Proses Likuifikasi Pati Garut

Tahap pertama dalam proses produksi siklodekstrin adalah likuifikasi. Likuifikasi pati adalah proses perubahan suspensi granula pati menjadi larutan dekstrin yang larut dengan viskositas yang rendah, sehingga penanganannya menjadi lebih mudah pada saat dikonversi menjadi glukosa oleh glukoamilase (Lloyd, Nelson 1984).

Produk siklodekstrin yang dihasilkan dipengaruhi oleh jumlah amilosa dalam pati. Menurut Lee, Kim (1991) bahwa pada umumnya produksi siklodekstrin dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan likuifikasi pati dengan panas, dengan atau tanpa enzim penghidrolisis, kemudian baru ditambahkan enzim CGTase untuk sintesis siklodekstrin. Proses tersebut akan menjadi sulit pada konsentrasi pati yang tinggi karena viskositas larutan pati akan meningkat dengan cepat pada saat proses likuifikasi. Proses likuifikasi ditandai dengan terjadinya penurunan viskositas larutan pati dengan cepat, sehingga dari bentuk semula berupa gel berubah menjadi larutan yang encer. Hasil likuifikasi pati umbi garut dengan enzim penghidrolisis α -amilase, β -amilase, pullulanase dan glukoamilase dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 2.



Gambar 1 Perolehan Dekstrin Optimum pada Berbagai Macam Jenis Enzim Tunggal.

Keterangan :
 A1= α -amilase ; A2= β -amilase
 A3= pullulanase; A4= glukoamilase

Tabel 2 Hasil Likuifikasi Pati Garut Oleh Berbagai Jenis Jnzim

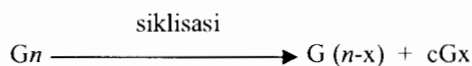
Enzim	Konsentrasi Enzim (IU)	Konsentrasi Pati (%)	Waktu Likuifikasi (menit)	Konsentrasi Dekstrin (g.L ⁻¹)
α -amilase	200	10	120	77
β -amilase	291	5	120	20
Pullulanase	894	10	120	45
Glukoamilase	56	15	60	86

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh dekstrin 40,33–86,67g.l⁻¹. Perolehan dekstrin terendah didapatkan pada enzim β -amilase dengan konsentrasi enzim 300 unit per mg enzim sebesar 40,33g.l⁻¹ dengan lama reaksi 120 menit. Perolehan dekstrin tertinggi didapatkan pada enzim glukoamilase dengan konsentrasi enzim 175 unit per miligram enzim sebesar 86,67g.l⁻¹ dengan lama reaksi 75 menit. Glukoamilase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis pada ikatan α -1,4-glukosidik dan α -1,6-glukosidik dari pati non pereduksi, polisakarida serta oligosakarida, untuk membebaskan α -D-glukosa (Sauer *et al.* 2000).

Perolehan dekstrin untuk enzim tunggal α -amilase adalah 200 unit per miligram enzim sebesar 70,35 g.l⁻¹ dengan lama reaksi 120 menit dan perolehan dekstrin untuk enzim pullulanase adalah 600 unit per mg enzim sebesar 45,37 g.l⁻¹ dengan lama reaksi 120 menit.

Konsentrasi CGTase dan Lama Reaksi dalam Proses Pembentukan Siklodekstrin

Proses siklisasi hidrolisat pati dalam pembentukan siklodekstrin menghasilkan produk samping berupa senyawa rantai pendek (gula sederhana) yang tidak dapat dikonversi menjadi siklodekstrin. Reaksi pembentukan siklodekstrin dan gula sederhana adalah sebagai berikut.



Keterangan :

G_n = Rantai lurus maltooligosakarida yang mengandung *n* sebagai unit dari α -1,4 glukopiranos

cG_x = Siklodekstrin dengan *x* sebagai unit α -1,4-glukopiranos

Siklodekstrin (sikloamilosa) adalah oligosakarida dalam bentuk siklik yang diproduksi secara enzimatis dari pati. Siklodekstrin utama (α , β , dan γ siklodekstrin) disusun dari enam, tujuh atau delapan unit D-glukosa yang terikat dengan ikatan α -1,4-glikosidik (Otero *et al.* 1991). Waktu yang diperlukan untuk menghasilkan siklodekstrin secara maksimum dipengaruhi oleh jumlah enzim CGTase dan waktu reaksi. Waktu reaksi tersebut sangat dipengaruhi oleh jenis dan kondisi substrat.

Pada umumnya semakin banyak enzim yang digunakan maka akan semakin banyak produk yang dihasilkan. Penggunaan enzim CGTase 100 unit siklodekstrin yang dihasilkan akan lebih besar dibandingkan pada penggunaan enzim CGTase 150 unit, gejala ini

disebabkan dengan penambahan enzim CGTase yang semakin tinggi akan terjadi reaksi *coupling* dan disproporsionasi (Dijkhuizen *et al.* 2000). Terdapatnya gula sederhana dalam substrat hidrolisat seperti glukosa, maltosa dan maltotriosa, menyebabkan aktivitas CGTase tidak dapat mengkonversi substrat menjadi siklodekstrin secara optimal. Hal tersebut disebabkan gula sederhana dapat menghambat reaksi siklisasi akibat terjadinya reaksi *coupling* yaitu pemecahan cincin siklodekstrin sehingga terbentuk maltooligosakarida dan disproporsionasi yaitu pemecahan maltooligosakarida yang menghasilkan maltooligosakarida lain dan gula pereduksi (Charoenlap *et al.* 2004; Burhan *et al.* 2005).

Reaksi *coupling* dapat menyebabkan terhambatnya pembentukan siklodekstrin. Berdasarkan hal tersebut proses likuifikasi harus dapat menghasilkan substrat dengan rantai glukosa yang sesuai untuk proses siklisasi dalam pembentukan siklodekstrin.

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh siklodekstrin yang berkisar 42,79–81,11 g.l⁻¹. Perolehan siklodekstrin terendah didapatkan pada enzim pullulanase dengan konsentrasi enzim CGTase 100 unit per gram substrat sebesar 29,96 g.l⁻¹ dengan lama reaksi 240 menit. Perolehan siklodekstrin tertinggi didapatkan pada enzim glukoamilase dengan konsentrasi enzim CGTase 150 unit per gram substrat sebesar 81,11 g.l⁻¹ dengan lama reaksi 90 menit. Perolehan siklodekstrin untuk enzim tunggal α -amilase dengan konsentrasi enzim CGTase 100 unit per gram substrat sebesar 77,27 g.l⁻¹ dengan lama reaksi 240 menit dan perolehan siklodekstrin untuk enzim tunggal β -amilase dengan konsentrasi enzim CGTase 100 unit per gram substrat sebesar 42,79 g.l⁻¹ dengan lama reaksi 240 menit.

Hubungan antara Konsentrasi Substrat Pati dan Perolehan Siklodekstrin

Konsentrasi substrat sangat berpengaruh pada keberhasilan proses produksi siklodekstrin melalui reaksi siklisasi. Pati tergelatinisasi pada konsentrasi substrat yang tinggi menyebabkan aktivitas CGTase terhambat, karena tingginya viskositas yang dihasilkan. Penurunan viskositas terjadi pada likuifikasi dengan menggunakan enzim penghidrolisis.

Pemakaian konsentrasi substrat yang digunakan untuk memperoleh dekstrin optimum pada masing-masing enzim tunggal berbeda-beda. Untuk enzim glukoamilase menggunakan konsentrasi substrat sebesar 15%. Untuk

enzim α -amilase dan pullulanase menggunakan konsentrasi substrat sebesar 10%. Untuk enzim β -amilase menggunakan konsentrasi substrat sebesar 5%.

Ciri Siklodekstrin

Perolehan jenis siklodekstrin dan komposisinya dari penggunaan berbagai jenis enzim dapat dilihat pada Tabel 3.

Terdapat tiga jenis siklodekstrin, yaitu α , β dan γ -siklodekstrin. Senyawa α -siklodekstrin terdiri atas 6 monomer glukosa, β -siklodekstrin dengan 7 monomer glukosa dan γ -siklodekstrin dengan 8 monomer glukosa (Lee dan Kim, 1991). Jenis siklodekstrin yang dihasilkan tersebut dipengaruhi oleh enzim CGTase yang digunakan. Sebagai contoh β -siklodekstrin dihasilkan dengan penggunaan enzim sikloheksaamilase yang diproduksi oleh *Bacillus macerans*, *B. megaterium* memproduksi sikloheptaamilase yang menghasilkan β -siklodekstrin,

Tabel 3 Perolehan komposisi siklodekstrin dari berbagai jenis enzim

Enzim Tunggal	α -siklodekstrin (%)	β -siklodekstrin (%)
β -amilase	22,48	11,41
α -amilase	37,61	10,11
Glukoamilase	32,21	2,82
Pullulanase	14,03	3,79

Bacillus sp. A16 menghasilkan β -siklodekstrin. Penentuan jenis siklodekstrin yang dihasilkan dapat memberikan gambaran pemanfaatan siklodekstrin yang dihasilkan, karena terdapat perbedaan karakteristik ketiga jenis siklodekstrin tersebut.

KESIMPULAN

Umbi garut kultivar Banana mempunyai kadar pati sebesar 90,31%, rendemen pati yang dihasilkan dari ekstraksi semi basah menghasilkan rendemen pati sebesar 9,07% (b/b).

Hasil penelitian likuifikasi pati umbi garut menunjukkan bahwa enzim α -amilase, β -amilase, pullulanase dan glukoamilase mampu menghidrolisis pati dengan cara dan kecepatan yang berbeda-beda. Perolehan dekstrin terendah didapatkan pada enzim β -amilase dengan konsentrasi enzim 300 unit per miligram enzim pada substrat 5% sebesar 40,33g.l⁻¹ dengan lama reaksi 120 menit. Perolehan dekstrin tertinggi didapatkan pada enzim glukoamilase dengan konsentrasi enzim 175 unit per miligram enzim pada substrat 15% sebesar 86,67 g.l⁻¹ dengan lama reaksi 75 menit. Perolehan dekstrin untuk enzim tunggal α -amilase 200 unit per miligram enzim pada

substrat 10% sebesar 70,35g.l⁻¹ dengan lama reaksi 120 menit dan perolehan dekstrin untuk enzim pullulanase 600 unit per miligram enzim pada substrat 10% sebesar 45,37g.l⁻¹ dengan lama reaksi 120 menit.

Perolehan siklodekstrin terendah didapatkan pada enzim pullulanase dengan konsentrasi enzim CGTase 100 unit per gram substrat sebesar 29,96g.l⁻¹ dengan lama reaksi 240 menit. Perolehan siklodekstrin tertinggi didapatkan pada enzim glukoamilase dengan konsentrasi enzim CGTase 150 unit per gram substrat sebesar 81,11g.l⁻¹ dengan lama reaksi 90 menit. Perolehan siklo-dekstrin untuk enzim tunggal α -amilase dengan konsentrasi enzim CGTase 100 unit per gram substrat sebesar 77,27g.l⁻¹ dengan lama reaksi 240 menit dan perolehan siklodekstrin untuk enzim tunggal β -amilase dengan konsentrasi enzim CGTase 100 unit per gram substrat sebesar 42,79g.l⁻¹ dengan lama reaksi 240 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriantono A, *et al.* 1989. Analisis Pangan. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemistry. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. Washington.
- Burhan N, T Sapundzhiev, V. Beschkov. 2005. Mathematical Modelling of Cyclodextrin-glucoamylase Production by Batch Cultivation. J. Biochem. Eng. 24: 73-77.
- Charoenlap N, S Dharmstithi, S Sirisansaneeyakul, S Lertsiri. 2004. Optimization of Cyclodextrin Production from Sago Starch. Bioresource Technol 92: 49-54.
- Dijkhuizen L, BW Dijkstra, BA van der Veen, JC Uitdehag, G.M.V. Alebeek dan L.M. Smith. 2000. Rational Design of Cyclodextrin Glycosyltransferase from *Bacillus circulans* Strain 251 to Increase α -Cyclodextrin Production. J. Mol. Biol. 296: 1027-1038.
- Laga A, AA Darwis. 2001. Produksi Siklodekstrin dengan Menggunakan Substrat Tapioka Terlikuifikasi dengan Aseptor Minimal. [Disertasi]. Pasca Sarjana Teknologi Industri Pertanian FATETA-IPB. Bogor.
- Lee YD, HS Kim. 1991. Enhancement of Enzymatic Production of Cyclodextrins by Organic Solvent. Enzyme Microb. Technol. 13: 499-503.
- _____. 1992. Effect of Organic Solvents on Enzymatic Production of Cyclodextrins from Unliqued Corn Starch in an Attrition Bioreactor. J. Biotechnol. Bioeng. 39: 977-983.

- Otero C, C Cruzado, A Ballesteros. 1991. Use of Cyclodextrins in Enzymology to Enhance the Solubility of Hydrophobic Compounds in Water. *J. Applied Biochem and Biotech.* 27: 185–193.
- Satin. 2001. Functional Properties of Starches. AGSI, homepage. <http://www.FAO.Org>.
- Sauer J,*et al.* 2000. Glucoamylase : Structure and Function Relationship, and Protein Engineering. *Biochem and Biophys Acta* Vol. 1543: 275–293.
- Szejtli J. 1988. *Cyclodextrin Technology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Tjiptadi W, S Raharja, BR Setyawati. 1990. Karakteristik Pati dan Manfaatnya dalam Industri. FATETA-IPB, Bogor.
- Villamajor Jr Fg; J Jurkema. 1996. *Maranta arrundinacea L. Di dalam Plants Yielding Non Seed Carbohydrates*. Prosea. 9.
- Whistler RL, JN Bemiler; EF Paschall. 1984. *Starch: Chemistry and Technology* (2nd edition). Academic Press. Inc. New York.