

PENINGKATAN KUALITAS GLUKOMANAN DARI *Amorphophallus oncophyllus* SECARA ENZIMATIS DENGAN α -AMILASE

Dyah Hesti Wardhani*, Nita Aryanti, Febrian Murvianto, dan Ken Dimas Yogananda

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.

Kampus Tembalang, Jl. Prof. Sudarto, SH, Tembalang – Semarang 50239, Jawa Tengah.

Telp. (024) 7460058, Fax. (024) 76480675

*Email: dhwardhani@che.undip.ac.id

Abstrak

Secara umum standar internasional mempersyaratkan tepung glukomanan mengandung glukomanan lebih dari 70%. Umbi porang (*Amorphophallus oncophyllus*) memiliki kandungan glukomanan 55% (basis kering) dengan impuritas utama berupa pati hingga 10%. Penghilangan pati akan meningkatkan kadar glukomanan tepung porang. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh kondisi hidrolisa pati menggunakan α -amilase terhadap kadar pati dan kadar glukomanan tepung porang. Hidrolisa dilakukan pada berbagai konsentrasi enzim (0,005-0,03 g enzim/g tepung porang), suhu (50-80°C) dan waktu hidrolisa (0-180 menit). Setelah glukomanan hasil purifikasi digumpalkan dengan 70% 2-propanol (IPA) dan dikeringkan, tepung yang diperoleh dianalisa kadar pati dan kadar glukomanannya. Penambahan konsentrasi enzim α -amilase dari 0,005–0,03 g enzim/g tepung porang menyebabkan kadar pati tepung porang mengalami penurunan dari 4,81% hingga 2,29% sedangkan glukomanan tepung hasil hidrolisa mengalami peningkatan dari 62,9% hingga 71,22%. Ketika konsentrasi enzim ditingkatkan menjadi 0,05 g enzim/g tepung porang, kadar pati kembali meningkat menjadi 2,91% diikuti dengan turunnya kadar glukomanan menjadi 67,3%. Secara umum, kenaikan temperatur menyebabkan semakin banyak pati yang terhidrolisa sehingga kadar glukomanan meningkat. Kadar pati kembali mengalami sedikit peningkatan pada hidrolisa diatas suhu 70°C. Meskipun penurunan kadar pati terbesar terjadi pada 30 menit pertama, namun penurunan tersebut masih tetap berlangsung hingga 180 menit. Penurunan ini diikuti dengan naiknya konsentrasi glukomanan. Pada penelitian ini kadar pati terendah (1,69%) diperoleh pada konsentrasi enzim 0,03 g/g tepung porang, suhu 70°C selama 180 menit. Pada kondisi ini diperoleh glukomanan tertinggi yaitu 73,02%. Analisa morfologi mengkonfirmasi permukaan granula hasil purifikasi lebih halus setelah impuritas berhasil dihilangkan.

Kata kunci: : α -amilase, *A. oncophyllus*, glukomanan, pati, pemurnian

PENDAHULUAN

Porang atau Iles-iles (*Amorphophallus oncophyllus*) merupakan salah satu umbi yang banyak dan mudah tumbuh di tepian hutan di Indonesia. Tepung porang kasar mengandung hingga 55% glukomanan (bk) (Rahayu, 2013). Aplikasi glukomanan sangat luas baik di sektor non-pangan dan pangan termasuk sebagai emulsifier dan stabilisator hingga aplikasinya di bidang farmasi (Zhang et al., 2014). Sayangnya, potensi ini belum digarap dengan maksimal. Porang diekspor dalam jumlah besar ke Cina dan Jepang dalam bentuk chip yang mempunyai nilai ekonomi yang rendah (Harmayani et al., 2014). Sedangkan tepung glukomanan yang telah dihasilkan mempunyai kualitas yang rendah. Standar internasional mempersyaratkan kandungan glukomanan minimal 70%, tergantung levelnya (Peiying et al., 2001). Karenanya sangat penting untuk mengembangkan proses pemurnian

glukomanan dari tepung porang ini agar dapat meningkatkan nilai jualnya.

Pemilihan metode pemurnian glukomanan memegang peran yang sangat penting karena akan mempengaruhi sifat glukomanan yang dihasilkan sehingga berdampak pada aplikasinya. Purifikasi cara mekanis menghasilkan glukomanan kadar rendah (Chua et al., 2012). Pada cara basah, ethanol ataupun isopropanol sering digunakan sebagai antisolven untuk mengikat pengotornya (Chua et al., 2012; Ohashi et al., 2000). Metode ini memerlukan jumlah solven yang banyak. Karena kelemahan metode ini, maka perlu dikembangkan metode pemurnian alternatif.

Glukomanan merupakan turunan hemiselulosa yang terdiri dari D-manosa (M) dan D-glukosa (G). Setiap granula glukomanan diselimuti oleh lapisan tipis pengotor yang didominasi oleh pati (Ohashi et al., 2000) yang mencapai 10% (Rahayu, 2013). Untuk

mendapatkan glukomanan dengan kemurnian tinggi, pengotor termasuk pati harus dihilangkan. Hingga saat ini hanya α -amilase yang telah digunakan untuk memodifikasi pati dan senyawa turunannya dengan cara memutus ikatan α -1,4 glikosidik (Chiu dan Solarek, 2009). Karena sifat enzim yang sangat spesifik maka α -amilase hanya memutus ikatan α -1,4 glukosida pada pati, sedangkan ikatan α -1,4 yang menghubungkan manosa dan glukosa penyusun dari glukomanan tidak ikut terhidrolisa. Pati yang terhidrolisa akan membuka lapisan tipis yang menyelubungi glukomanan dan melepaskan granula manan. Kajian purifikasi tepung porang secara enzimatis menggunakan α -amilase masih sangat terbatas. Karenanya, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh berbagai kondisi reaksi hidrolisa pati menggunakan α -amilase terhadap kadar pati dan kadar glukomannan tepung porang.

METODE PENELITIAN

Hidrolisa Enzimatis

Tepung porang dilarutkan menggunakan air, dengan konsentrasi 2,5%. Setelah dipanaskan sampai suhu tertentu, suspensi kemudian direaksikan dengan α -amilase (Suntaq Enzyme Co., 4000 U/g) pada labu leher tiga berpendingin selama waktu tertentu dengan pengadukan mekanis 350 rpm. Reaksi dilakukan pada berbagai konsentrasi enzim (0,005, 0,01, 0,03, dan 0,05 g enzim/g tepung porang) selama 30 - 180 menit (interval 30 menit) pada suhu 50, 60, 70, 80°C.

Pencucian dan Analisa

Setelah proses reaksi selesai, suspensi kemudian dicuci menggunakan larutan IPA 70% (200 ml) dan diaduk dengan kecepatan 350 rpm selama 30 menit. Padatan kemudian disaring, dikeringkan (70°C, 6 jam) dan dihaluskan untuk diuji kadar pati (AOAC, 1984) dan glukomanan (Chua et al., 2012). Sampel dengan kadar glukomanan tertinggi selanjutnya dianalisa morfologinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

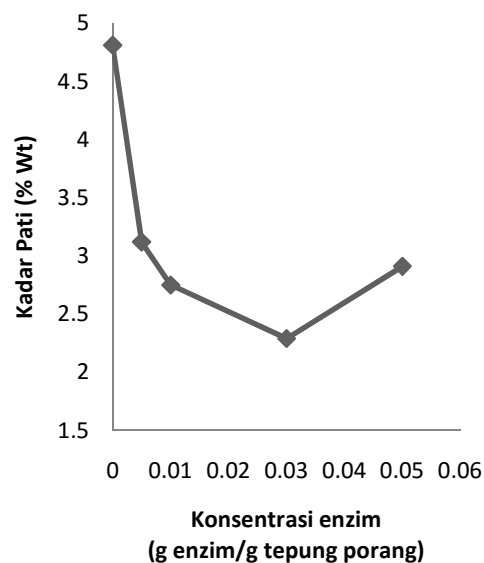
Pada penelitian ini tepung porang dengan kadar glukomanan tinggi merupakan hasil yang diinginkan. Purifikasi dilakukan dengan menghidrolisa pati yang merupakan pengotor paling banyak pada tepung porang menggunakan α -amilase. Tepung porang mula-mula

mengandung kadar pati sebesar 4.81% dan kadar glukomanan sebesar 62.9%.

Pengaruh Konsentrasi Enzim

Pada pembahasan ini akan ditinjau pengaruh dari konsentrasi enzim terhadap glukomannan dan kadar pati yang didapat. Hidrolisa dilakukan pada kondisi suhu 70°C, pengadukan 350 rpm, konsentrasi tepung porang 2,5% (w/v) selama 1 jam. Konsentrasi enzim divariasi antara 0.005–0.05 g enzim/ g tepung porang. Hasil dari pengaruh konsentrasi enzim terhadap kadar pati dan glukomanan disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Gambar 1 menunjukkan penurunan konsentrasi pati setelah tepung porang direaksikan dengan α -amilase. Peningkatan konsentrasi enzim hingga 0,03 g enzim/g tepung porang menyebabkan semakin banyak pati yang didegradasi. Pada konsentrasi enzim ini, didapatkan kadar pati 2,29%. Penurunan ini menunjukkan α -amilase bereaksi mendegradasi pati pada ikatan α -1,4 glikosidik menjadi senyawa turunannya termasuk polisakarida baik yang linear maupun bercabang serta glukosa (Sharma dan Satyanarayana, 2013).



Gambar 1. Kadar pati tepung porang hasil hidrolisa pada berbagai konsentrasi enzim

Semakin banyak enzim yang bekerja untuk memutus ikatan α -1,4 ini berarti semakin banyak pati yang terhidrolisa. Namun demikian, peningkatan konsentrasi enzim diatas 0.03 g/g menyebabkan aktivitas enzim menurun. Hal ini ditandai dengan terjadinya kenaikan kembali

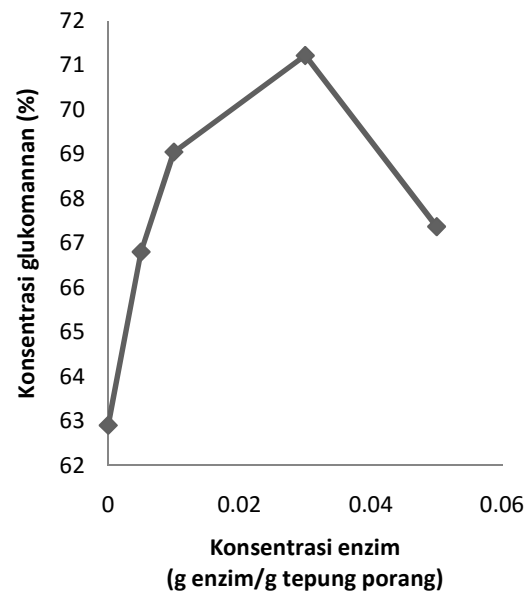
konsentrasi pati menjadi 2,91% pada konsentrasi enzim 0.05 g/g. Kenaikan kembali kadar pati ini kemungkinan disebabkan karena adanya senyawa lain yang merupakan inhibitor yang berkompetisi dengan pati dalam menggunakan α -amilase. Karena sifat enzim α -amilase yang sangat spesifik hanya memutus ikatan α -1,4 saja, maka senyawa inhibitor yang berkompetisi dengan pati juga mempunyai ikatan yang sama. Dalam degradasi menggunakan α -amilase, pati akan terdegradasi menjadi maltodekstrin maupun senyawa turunan lain yang mempunyai ikatan α -1,4. Semakin banyak enzim yang digunakan berarti semakin banyak juga hasil degradasi dari pati. Hasil degradasi ini akan berkompetisi dengan pati menghasilkan senyawa yang lebih sederhana. Akibatnya kesempatan pati untuk bereaksi dengan α -amilase menjadi semakin kecil sehingga pati yang bereaksi pada konsentrasi enzim yang tinggi justru malah berkurang. Apar dan Ozbek (2005) melaporkan glukosa, maltosa dan produk hidrolisa lainnya merupakan inhibitor pada hidrolisa pati menggunakan α -amilase.

Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kadar glukomanan dapat dilihat pada Gambar 2. Gambar 2 menunjukkan penggunaan α -amilase hingga 0,03 g/g meningkatkan kadar glukomanan pada tepung porang hingga 71,22%. Peningkatan ini disebabkan turunnya kadar pati yang merupakan pengotor utama pada tepung porang, seperti yang digambarkan pada Gambar 1. Selain itu, hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan α -amilase tidak berpengaruh negatif terhadap glukomanan yang merupakan heterosakarida yang terdiri dari D-manosa dan D-glukosa dengan ikatan α -1,4 (Chua et al., 2012).

Sejalan dengan hasil pada Gambar 1, konsentrasi glukomanan kembali menurun menjadi 67,37% jika konsentrasi enzim dinaikan hingga 0,05 g/g. Penurunan glukomanan ini disebabkan oleh terbentuknya produk- produk hidrolisa yang merupakan inhibitor bagi pati seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Berkurangnya pati yang bereaksi menyebabkan glukomanan menurun kembali. Kenaikan glukomanan pada penggunaan konsentrasi enzim yang lebih tinggi juga dilaporkan oleh Mulyono (2010).

Dari variasi konsentrasi enzim yang dilakukan didapatkan glukomanan tertinggi 71,22% diperoleh pada konsentrasi enzim 0,03 g/g tepung porang. Karenanya pada tahapan

eksperimen berikutnya digunakan konsentrasi enzim tetap yaitu pada 0,03 g/g.



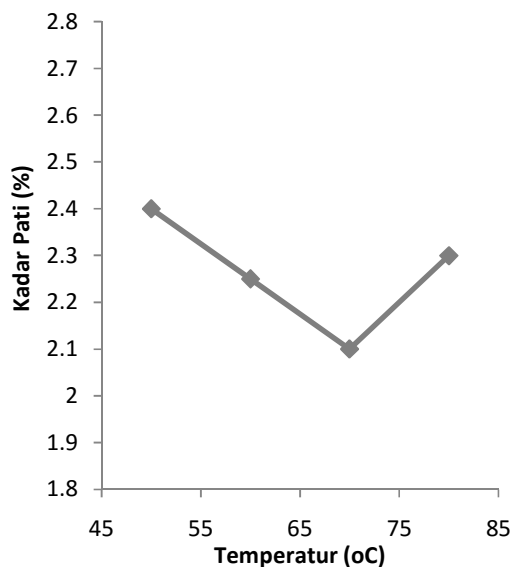
Gambar 2. Konsentrasi glukomanan hasil hidrolisa pada berbagai konsentrasi enzim

Pengaruh Suhu Reaksi

Pengaruh suhu reaksi hidrolisa pati tepung porang (50-80°C) diamati terhadap kadar pati (Gambar 3) dan glukomanan (Gambar 4) pada konsentrasi enzim 0,03 g/g, pengadukan 350 rpm selama 60 menit.

Gambar 3 memperlihatkan kadar pati menurun dengan naiknya suhu reaksi hingga 70°C. Kenaikan suhu lebih lanjut ke 80°C menyebabkan kadar pati naik kembali ke 2,17%. Berdasarkan data dari vendor enzim (Suntaq Enzim co.), enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah α -amylase yang diisolasi dari mikroba *Bacillus Subtilissp*, yang mempunyai rentang suhu kerja enzim 50 - 70°C. Enzim yang berasal dari *Bacillus Subtilis sp.* ini dilaporkan bekerja optimal memecah molekul pati pada suhu 65-70°C dan pH 5-7 (Sharma dan Satyanarayana, 2013). Karenanya pola penurunan kadar pati pada rentang suhu tersebut sesuai dengan data aktifitas enzim yang diperoleh dari vendor.

Miao et al., (2013) melaporkan pengaruh positif suhu terhadap kecepatan reaksi pada reaksi hidrolisa pati menggunakan α -amilase sesuai dengan persamaan Arrhenius (1).



Gambar 3. Kadar pati tepung porang hasil hidrolisa pada berbagai suhu reaksi

$$k = Ae^{\frac{-Ea}{RT}} \quad (1)$$

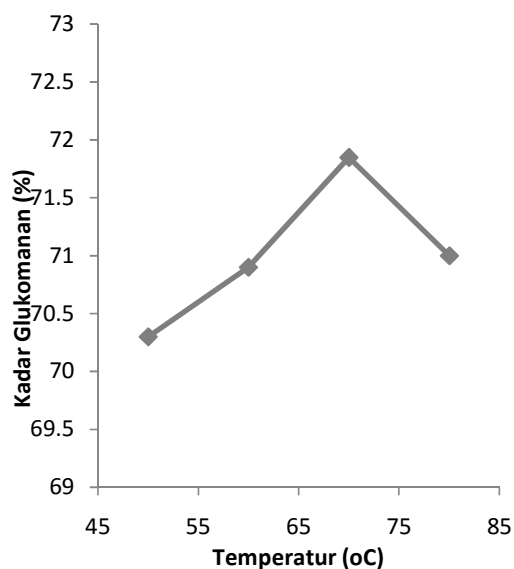
dimana, k kecepatan reaksi (waktu^{-1}), Ea energi aktivasi (L atm mol^{-1}), T suhu ($^{\circ}\text{K}$), A faktor tumbukan (menit^{-1}) dan R tetapan gas ideal ($\text{L atm mol}^{-1} \text{K}^{-1}$).

Dari persamaan (1) didapatkan suhu reaksi berbanding lurus dengan konstanta kecepatan reaksi. Pada suhu tinggi, molekul-molekul yang terlibat pada reaksi dalam hal ini pati dan enzim memiliki energi yang besar, sehingga memiliki kecenderungan untuk bergerak lebih cepat. Hal ini menimbulkan intensitas tumbukan partikel seperti pati, glukomanan, enzim di dalam sistem meningkat. Tumbukan antar partikel ini meningkatkan kemungkinan pati-enzim untuk saling bertemu dan berikatan sehingga secara keseluruhan menyebabkan kecepatan hidrolisa akan meningkat. Karena nilai konstanta reaksi selalu bernilai positif, maka laju reaksi akan selalu meningkat seiring naiknya suhu reaksi. Namun demikian pada reaksi enzimatik, kenaikan kecepatan reaksi memiliki batasan tertentu yaitu hingga temperatur denaturasi.

Ketika temperatur meningkat, proses denaturasi juga mulai berlangsung dan dapat menurunkan aktivitas molekul enzim. Pada suhu di atas rentang kerja enzim, rantai-rantai protein pada enzim tidak dapat merapat kembali setelah pemutusan ikatan yang lemah, seperti misalnya ikatan hydrogen. Hal ini

menyebabkan sisi aktif enzim menjadi rusak sehingga aktifitasnya menurun. Semakin tinggi suhu, semakin banyak ikatan yang tidak dapat kembali seperti semula sehingga suatu saat kecepatan reaksi akan menurun (Daniel et al., 2013). Pada penelitian ini denaturasi enzim mulai teramati pada suhu diatas 70°C dimana kadar pati kembali meningkat.

Gambar 4 menunjukkan pengaruh suhu hidrolisa terhadap kadar glukomanan tepung porang, dimana glukomanan meningkat dengan kenaikan suhu namun setelah mencapai suhu 70°C kadar glukomanan yang didapatkan turun kembali. Hasil ini mendukung hasil pada Gambar 3 dimana konsentrasi glukomanan tertinggi (71,85%) diperoleh pada suhu 70°C .



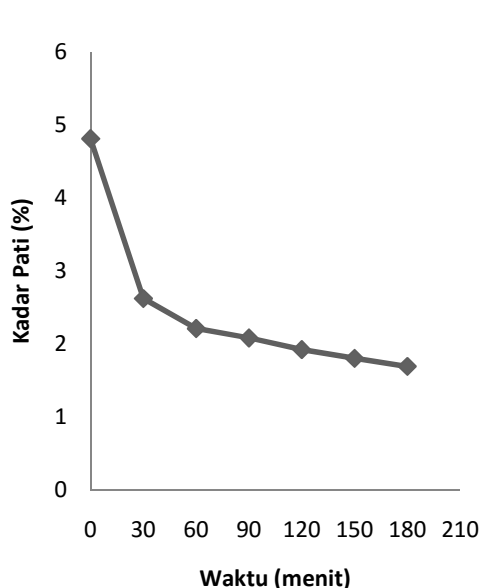
Gambar 4. Kadar glukomanan tepung porang hasil hidrolisa pada berbagai suhu reaksi

Pengaruh positif suhu reaksi hidrolisa terhadap kadar glukomanan juga dilaporkan oleh Mutia (2011) pada suhu 50 dan 65°C . Bahkan Nurjanah (2010) melaporkan kenaikan glukomanan terjadi pada rentang suhu $65-95^{\circ}\text{C}$. Kenaikan glukomanan yang tetap terjadi pada suhu diatas 80°C ini dimungkinkan terjadi karena enzim yang digunakan adalah enzim termotabil yang mempunyai suhu optimum 95°C (Nurjanah, 2010).

Pengaruh Waktu Reaksi

Pengujian pengaruh waktu terhadap kadar pati dan glukomanan diamati dari waktu reaksi hidrolisa 0-180 menit dengan interval 30

menit, pada kondisi konsentrasi tepung porang 2,5%, pengadukan 350 rpm, suhu 70°C, dan konsentrasi enzim 0,03 g/g. Kadar pati yang diperoleh pada kondisi ini ditunjukkan pada Gambar 5.

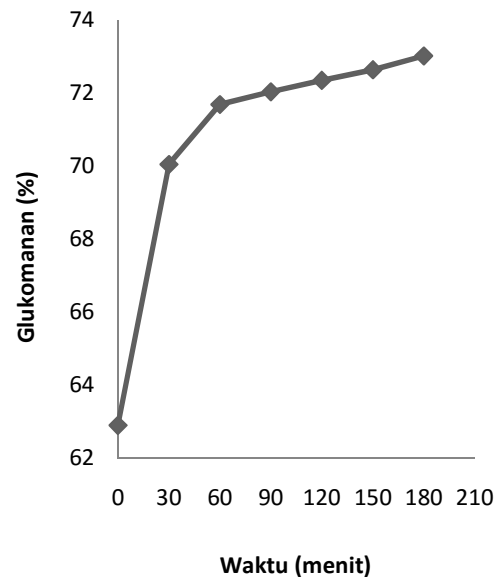


Gambar 5. Kadar pati tepung porang hasil hidrolisa pada berbagai waktu reaksi

Gambar 5 menunjukkan semakin lama waktu reaksi maka kadar pati semakin menurun. Hal ini dikarenakan semakin lama reaksi, sesemakin banyak pati yang terdegradasi sehingga kadar pati semakin sedikit. Penurunan pati tertinggi terjadi di 30 menit pertama saat pati masih tersedia dalam jumlah banyak. Semakin lama reaksi, produk hidrolisa yang terakumulasi semakin banyak. Produk hidrolisa yang masih mempunyai ikatan α -1,4 akan berkompetisi dengan pati yang ada. Akibatnya, penurunan pati terjadi secara lebih perlahan. Setelah 180 menit, diperoleh kadar pati 2,21% yang berarti degradasi masih mungkin terus terjadi.

Pengaruh waktu reaksi terhadap konsentrasi glukomanan menunjukkan tren yang berkebalikan dengan kadar pati. Dari Gambar 6 didapat konsentrasi glukomannan terus meningkat seiring berjalannya waktu reaksi. Seiring turunnya kadar pati yang merupakan impuritas terbesar pada tepung porang, maka kadar glukomannan tepung porang pun meningkat. Peningkatan glukomanan tertinggi terjadi pada 30 menit pertama, selanjutnya kecepatan peningkatan glukomanan menurun. Kecenderungan ini sesuai dengan hasil kadar

pati yang ditunjukkan pada Gambar 5. Kadar glukomannan tertinggi dicapai pada waktu hidrolisa 180 menit dengan kemurnian mencapai 73.02%.



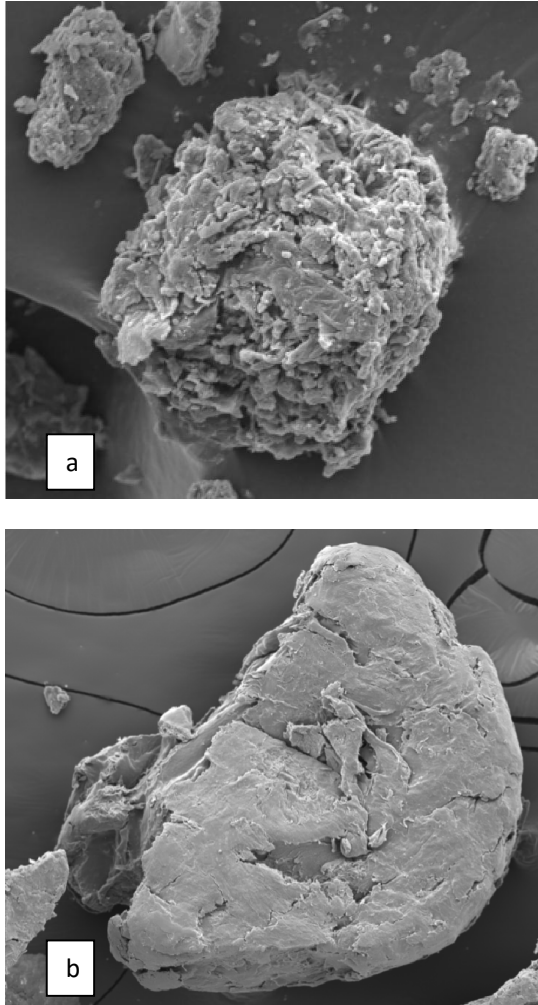
Gambar 6. Kadar glukomanan tepung porang hasil hidrolisa pada berbagai waktu reaksi

Mulyono (2010) juga melaporkan pada konsentrasi enzim 2,5% dan 5%, kadar glukomanan meningkat seiring dengan waktu. Namun kenaikan kadar enzim hingga 7,5% menyebabkan turunnya kembali glukomanan apabila reaksi diperpanjang hingga 4 jam. Mutia (2011) mendapatkan kadar glukomanan maksimal pada reaksi selama 2 jam dan selanjutnya kadar glukomanan menurun kembali. Terjadinya penurunan kadar glukomanan ini dimungkinkan terjadi karena pengaruh konsentrasi enzim. Pada konsentrasi enzim yang tinggi, kadar glukomanan yang tinggi dapat segera tercapai. Namun jika waktu diperpanjang lebih lama akan menyebabkan turunnya kembali glukomanan karena efek inhibitor dari produk hidrolisa yang dihasilkan.

Morfologi

Analisa morfologi dilakukan menggunakan analisa SEM. Perbandingan SEM antara tepung porang kasar dengan tepung porang hasil hidrolisa pada kadar glukomanan tertinggi ditunjukkan pada Gambar 7. Pada tepung porang kasar terlihat permukaan butiran yang masih sangat kasar yang kemungkinan disebabkan oleh banyak senyawanya impuritas

yang menyelimuti granula glukomanannya. Sedangkan pada tepung hasil hidrolisa didapatkan granula dengan permukaan yang lebih halus. Hal ini menandakan impuritas yang menyelimuti granula glukomanan telah berhasil dikurangi.



Gambar 7. Perbandingan SEM antara tepung porang kasar (a) dan tepung porang dengan kadar glukomanan tertinggi (b).

KESIMPULAN

Penelitian ini memperlihatkan purifikasi glukomanan tepung porang dapat dilakukan dengan menghidrolisa impuritas terbesarnya yaitu pati menggunakan α -amilase. Penghilangan pati akan melepaskan granula glukomanan sehingga konsentrasinya meningkat. Konsentrasi enzim, suhu dan waktu hidrolisa berpengaruh terhadap kemurnian glukomanan. Kadar pati terendah (1,69%) diperoleh pada konsentrasi enzim 0,03 g/g

tepung porang, suhu 70°C selama 180 menit. Pada kondisi ini diperoleh glukomanan tertinggi yaitu 73,02%. Analisa morfologi mengkonfirmasi permukaan granula hasil purifikasi lebih halus setelah impuritas berhasil dihilangkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai melalui Hibah Fundamental Sumber Dana Ditlitabmas Ditjen Dikti Kemendikbud Tahun Anggaran 2015, No. 140-16/UN7.5.1/PG/2015.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. Association of Official Analysis Chemistry. Washington.
- Apar DK, Ozbek B. 2005. α -Amylase inactivation during rice starch hydrolysis. *Process Biochemistry* 40: 1367–1379
- Chiu C, Solarek D. 2009. *Modification of starches*. In: BeMiller J. dan Whistler R. (Eds) *Starch: Chemistry & Tehnology*, 3th Ed, Elsevier, Amsterdam.
- Chua M, Baldwin TC, Hocking TJ, Chan K. 2012. Methodologies for the extraction and analysis of konjac glucomannan from corms of *Amorphophallus konjac* K. Koch. *Journal of Carbohydrate Polymers* 87: 2202– 2210.
- Daniel RM, Michael JD. 2013. Temperature and the catalytic activity of enzymes: *A fresh Understanding*. *FEBS Letters* 587: 2738–2743
- Harmayani E, Aprilia V, Marsono Y. 2014. Characterization of glucomannan from *Amorphophallus onchophyllus* and its prebiotic activity in vivo. *Carbohydrate Polymers* 112:475-479
- Miao J, Fan Y, Li J, Fu D. 2013. Kinetics of medium-temperature α -amylase hydrolyzed *Huaiyam* powder. *Agricultural Scientis* 4 No.9B: 5-11
- Mulyono E. 2010 Peningkatan mutu iles-iles (*Amorphophallus onchophyllus*) food grade (glukomanan 80%) melalui teknologi pencucian bertingkat dan enzimatis. *Laporan Penelitian*, Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Mutia R. 2011. Pemurnian glukomanan secara enzimatis dari tepung iles-iles. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Nurjanah Z. 2010. Kajian Proses Pemurnian Tepung Glukomanan dari Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus oncophyllus*) dengan Menggunakan Enzim α -Amilase. *Skripsi*, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Ohashi S. Shelso GJ. Moinaro AL. Drinkwater WL. 2000. Clarified Konjac Glucomannan. *US Patent no. 6,162,196*
- Peiying L. Zhang S. Chen Y. Quyang H. Han M. Wang Z. Xiong W. Peng H. 2002. Konjac flour, NY Professional Standard of the People' Republic of China for Konjac Flour, NY/T 494
- Rahayu LH. 2013. Peningkatan Kadar Glukomanan Dari Tepung Porang (*Amorphophallus Oncophyllus*) Melalui Metode Pencucian Menggunakan Larutan Isopropil Alkohol (IPA) Berbantu Ultrasonik. *Tesis*, Program Pasca Sarjana Undip, Semarang
- Sharma AT. Satyanarayana. 2013. Microbial acid-stable α -amylases: Characteristics, genetic engineering and applications. *Process Biochemistry* 48: 201–211
- Zhang C. Chen JD. Yang FQ. 2014. Konjac glucomannan, a promoting polysaccharide for OCDDS. *Carbohydrate Polymer* 104: 175-81