

HIDROLISIS SECARA SINERGIS PATI GARUT (*Marantha arundinaceae* L.) OLEH ENZIM α -AMILASE, GLUKOAMILASE, DAN PULLULANASE UNTUK PRODUKSI SIRUP GLUKOSA

*Synergistic Hydrolysis of Arrowroot (*Marantha arundinaceae* L.) Starch by α -Amylase, Glucoamylase, and Pullulanase for Glucose Syrup Production*

Yunianta*, Tri Sulisty, Apriliausti, Teti Estiasih, dan Siti Narsito Wulan

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Fak. Teknologi Pertanian – Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi : e-mail yuniantamlg@yahoo.com

ABSTRACT

The purified α -amylase, glucoamylase and pullulanase were used for hydrolysis of arrowroot starch (*Marantha arundinaceae* L.) a local tuber from Indonesia. This arrowroot starch is a potential source for glucose syrup production. The amylolytic activities of α -amylase, glucoamylase (from *Aspergillus niger*) and pullulanase (from *Bacillus licheniformis*) were 90 KNU/g, 260 GAU/g and 390 ASPU/g, respectively. These enzymes were used to study their synergistic effects on the hydrolysis of arrowroot starch to glucose syrup. We have studied the effect of α -amylase concentration (0.025%, 0.045%, and 0.065% (w/w)) and incubation time (1 hour, 1,5 hours, and 2 hours) during liquefaction process that was combined with 24 hours of saccharification process using 0.08% (w/w) dextrozyme (mixture of glucoamylase and pullulanase) in the glucose syrup production. This experiment showed that 1.5 hours of liquefaction process using 0.045% (w/w) of α -amylase produced 24.64% of reducing sugar and 91.80 of dextrose equivalent. The second experiment was focused on the determination of saccharification process, where 1 hour liquefaction process using 0.045% (w/w) of α -amylase was combined with saccharification process using dextrozyme. In the saccharification process, a various dextrozyme concentrations (0.04, 0.06, and 0.08 % (w/w)) and incubation times (24 hours, 48 hours, 72 hours) were studied in relation to glucose syrup production. It was showed that 0.08% (w/w) of dextrozyme and 24 hours of incubation time gave the best result on glucose syrup with 24.88% of reducing sugar and 92.14 of dextrose equivalent.

Keywords: arrowroot, α -amylase, dextrozyme, liquefaction, saccharification, glucose syrup

PENDAHULUAN

Pengembangan gula cair di Indonesia meningkat seiring dengan meningkatnya jumlah industri makanan dan minuman. Salah satu pati yang dapat digunakan dalam pembuatan sirup glukosa yaitu pati dari umbi garut (*Marantha arundinaceae* L.). Hal tersebut dikarenakan kadar pati pada pati umbi garut (*Marantha arundinaceae* L.) cukup tinggi yaitu sekitar 80–85% sehingga potensial

untuk digunakan sebagai bahan baku pembuatan sirup glukosa.

Pembuatan sirup glukosa secara hidrolisis enzimatis terjadi melalui dua tahap yaitu likuifikasi dan sakarifikasi. Pada tahap likuifikasi, enzim α -amilase (EC 3.2.1.1), memecah molekul pati dari sisi bagian dalam rantai pati pada ikatan (1,4)- α -glikosida menjadi molekul dengan BM lebih kecil yang meliputi glukosa, maltosa, dekstrin dan oligosakarida yang dapat ditandai dengan semakin rendahnya viskositas larutan. Enzim glukosa-

amilase mempunyai afinitas rendah terhadap ikatan (1,6)- α -glikosida, sehingga sulit memecah ikatan cabang dari molekul amilopektin yang umumnya merupakan fraksi utama dari suatu pati (75–80%) (Villamajor and Jurkema, 1996). Untuk membantu proses hidrolisis titik percabangan, maka biasanya ditambahkan enzim yang spesifik mampu menghidrolisis titik percabangan yaitu pullulanase. Kombinasi antara glukoamilase dan pullulanase sering dinamakan dengan dextrozyme (Whitehurst and Law, 2002).

Tahap pertama adalah tahap likuifikasi yaitu pati digelatinisasi terlebih dahulu dan dihidrolisis oleh enzim α -amilase (biasanya enzim ini bersifat termostabil) yang dapat diperoleh dari biakan *Bacillus licheniformis*, *B. amylo-liquefaciens*, atau *B. stearothermophilus* pada suhu 90–110°C dan pH 6–7. Adapun tahap sakarifikasi dilakukan setelah proses likuifikasi dengan enzim glukoamilase biasanya digunakan pada suhu sekitar 60 dan pH 4–5. Pada tahap ini pati akan dikonversikan menjadi glukosa. Glukoamilase banyak dihasilkan oleh jamur *Rhizopus* atau *Aspergillus niger*. Oleh karena dua proses tersebut membutuhkan enzim dengan kondisi optimum proses yang berbeda, maka diperlukan pemisahan tempat dan waktu proses.

Penelitian pembuatan sirup glukosa dari berbagai bahan baku telah banyak dilakukan, diantaranya oleh Maruta (1998) pada pati jagung serta Gorinstein (1994) pada pati sagu dengan kondisi lama likuifikasi 30 menit dan 5 jam serta Richana dkk (2000) pada ubi kayu, garut, dan sagu menggunakan lama likuifikasi 60 menit. Perbedaan lama likuifikasi tersebut diduga dapat menghasilkan karakteristik sirup glukosa yang berbeda.

Proses likuifikasi dan sakarifikasi pada pembuatan sirup glukosa dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, suhu, konsentrasi enzim, dan lama inkubasi (likuifikasi dan sakarifikasi). Suhu dan pH optimum untuk menghidrolisis pati telah ditentukan sesuai dengan jenis enzim yang digunakan. Konsentrasi en-

zim akan mempengaruhi jumlah substrat yang kontak dengan enzim. Selain itu lama sakarifikasi mempengaruhi lama kontak antara enzim dan substrat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim α -amilase dan dextrozyme serta lama likuifikasi dan sakarifikasi pada pembuatan sirup glukosa dari pati umbi garut (*Marantha arundinaceae* L.) secara hidrolisis enzimatis.

BAHAN DAN METODE

Pati garut diekstrak dari umbi garut (*Marantha arundinaceae* L.) varietas Creole (umur panen 10 bulan) yang diperoleh dari Tumpang, Malang. Sebelum digunakan, umbi garut disortasi, kemudian dicuci untuk membersihkan sisa kotoran serta sisik yang masih tertinggal. Setelah itu dilakukan penggilingan dilanjutkan proses ekstraksi dengan perbandingan air:bahan adalah 3:1. Bubur umbi garut yang diperoleh disaring dengan kain saring dan filtrat yang diperoleh diendapkan selama 3 jam. Endapan dicuci sebanyak 2 kali dengan penambahan air dengan perbandingan air:bahan adalah 2:1. Setelah itu dikeringkan dengan pengering pada suhu 60°C selama 5 jam. Pati kering yang dihasilkan digiling kemudian diayak dengan ayakan ukuran 100 mesh.

Enzim yang digunakan untuk proses likuifikasi adalah enzim α -amilase (Liquozyme Supra®) dari *Bacillus licheniformis* dengan aktivitas 90 KNU/g, dengan 1 KNU didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dapat menghidrolisis 5,26 gram pati terlarut per jam pada pH 5,6 dan suhu 37°C (Kearsley and Dziedzic, 1995). Adapun enzim yang digunakan dalam proses sakarifikasi adalah dextrozyme (Optimax 4060 VHP®) yang merupakan campuran dari glukoamilase (dari *Aspergillus niger*) dan pullulanase (dari *Bacillus licheniformis*) yang masing-masing memiliki aktivitas 260 GAU/g dan 390 ASPU/g. Satu unit GAU glukoamilase adalah sejumlah enzim glukoamilase yang membebaskan 1 gram gula pere-

duksi yang dihitung setara sebagai glukosa per jam dari substrat pati terlarut di bawah kondisi tertentu pengujian. Satu unit ASPU dari pullulanase adalah aktivitas enzim pullulanase yang membebaskan 1 potensial reduksi yang ekuivalen yang ditunjukkan sebagai glukosa per menit di bawah kondisi pengujian ASPU pada pH 4-4,5 dan suhu 60°C.

Penelitian tahap pertama difokuskan pada studi tentang pengaruh konsentrasi enzim α -amilase dan lama likuifikasi terhadap efektifitas produksi gula cair. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian pada tahap pertama adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor. Faktor I adalah konsentrasi enzim α -amilase yang terdiri dari tiga tingkat yaitu 0,025%, 0,045%, dan 0,065% b/b. Faktor II yaitu lama likuifikasi yang terdiri dari tiga tingkat yaitu 60, 90, dan 120 menit, dengan setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Tahap likuifikasi dimulai dengan penyiapan suspensi pati 30% dan pH diatur pH 5,3 lalu ditambahkan CaCO_3 . Kedalam suspensi pati ditambahkan enzim α -amilase liquosuprazyme 0,025%, 0,045%, dan 0,065% (b/b) serta diinkubasikan pada suhu 95°C selama 60, 90, atau 120 menit. Kemudian dilanjutkan proses sakarifikasi dengan mengatur pH 4,5 lalu ditambahkan enzim dextrozyme (glukoamilase dan pullulanase) sebesar 0,08% b/b selama 72 jam. Inaktivasi enzim dilakukan dengan memanaskan pada suhu 105°C selama 15 menit dan disentrifusa untuk mendapatkan sirup glukosa. Sirup glukosa yang diperoleh kemudian dianalisis kadar gula pereduksi, nilai DE, dan viskositas. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA. Apabila terdapat beda nyata pada interaksi kedua perlakuan maka dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*), atau BNT (Beda Nyata Terkecil) apabila hanya perlakuan saja yang berpengaruh (Yitnosumarto, 1991).

Penelitian tahap kedua difokuskan pada studi tentang pengaruh konsentrasi enzim dextrozyme dan lama sakarifikasi

terhadap efektifitas produksi gula cair. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian pada tahap kedua adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor, dengan faktor I yaitu konsentrasi enzim dextrozyme terdiri dari 0,012 g (0,04% b/b); 0,018 g (0,06% b/b); 0,024 g (0,08% b/b), sedangkan faktor II yaitu lama sakarifikasi (24, 48 dan 72 jam). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Pengukuran aktivitas enzim dilakukan dengan menentukan jumlah gula pereduksi dengan menggunakan *dinitrosalicylic acid (DNS)* (Stamford *et al.* 2002; Marlida *et al.* 1991) atau dengan metode Nelson-Somogyi (Primarini and Yoshiyuki, 2000; Thomas, Priest and Stark, 1980).

Pembuatan Sirup Glukosa

Suspensi pati garut 30% (b/v) ditambah CaCO_3 sebanyak 20 ppm dan dilakukan pengaturan pH sampai dengan 5,3 dengan penambahan larutan HCl 1 N. Setelah itu dilakukan penambahan enzim α -amilase (Liquozyme Supra®). Pati hasil likuifikasi didinginkan sampai suhu ruang, kemudian pH diatur dengan penambahan larutan HCl 1 N sampai dengan pH 4,5. Setelah itu ditambahkan enzim dextrozyme (Optimax 4060 VHP®) yang merupakan campuran dari glukoamilase (dari *Aspergillus niger*) dan pullulanase (dari *Bacillus licheniformis*) yang masing-masing memiliki aktivitas 260 GAU/g dan 390 ASPU/g sebanyak 0,012 g (0,04% b/b); 0,018 g (0,06% b/b); 0,024 g (0,08% b/b) dan dilakukan proses sakarifikasi pada suhu 60°C selama 24, 48, atau 72 jam. Hasil sakarifikasi diinaktivasi pada suhu 105°C selama 15 menit kemudian disentrifusa pada 9000 rpm selama 30 menit sehingga diperoleh sirup glukosa.

Metode Analisis

Analisis yang dilakukan pada pati garut meliputi analisis kadar air dengan metode distilasi (Apriyantono, dkk., 1989), kadar serat (AOAC, 1970), kadar pati (AOAC, 1970), kadar abu (AOAC,

1970), serta kadar amilosa dan amilopektin metode IRRI (1971) (dalam Apriyantono dkk, 1989). Analisis yang dilakukan pada sirup glukosa adalah kadar gula pereduksi metode Nelson Somogyi (AOAC, 1970), Dekstrosa Ekuivalen (DE) (Anonim, 2002), viskositas relatif (Yuwono dan Susanto, 1998). Data dianalisis statistik dengan analisis ragam dan dilanjutkan dengan uji BNT atau DMRT (Yitnosumarto, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pati garut terdiri dari pati (83,68%), gula pereduksi (1,69%), air (11,64%), serat kasar (1,85%), dan abu (0,50%) (Erianti, 2004). Rendemen pati dari umbi garut yang diteliti sekitar 20%. Hasil analisis menunjukkan bahwa aktivitas amilolitik enzim α -amilase sebesar 87,53 unit/ml yaitu aktivitas yang menyatakan banyaknya glukosa yang terbentuk dari hasil hidrolisis pati terlarut oleh 1 ml enzim α -amilase dalam waktu satu menit. Berdasarkan spesifikasi enzim, liquosuprazyme memiliki aktivitas sebesar 90 KNU/g.

Data menunjukkan bahwa enzim α -amilase aktif dalam memecah molekul pati menjadi senyawa oligosakarida dan dekstrin. Selama 1-1,5 jam proses terjadi peningkatan kadar gula pereduksi sebesar 22,72-24,64%. Proses ini ditandai dengan likuifikasi/penurunan viskositas massa pati, karena molekul pati baik amilosa maupun amilopektin mengalami pemecahan dari dalam rantai sehingga dihasilkan oligosakarida dan dekstrin dengan molekul relatif kecil. Hal ini dapat dilihat secara fisik dengan mengukur viskositas larutan. Pada akhir proses viskositas berkisar 1,1078-1,1163 cps. Viskositas relatif tertinggi diperoleh pada sirup glukosa dengan konsentrasi enzim 0,065% (b/b) dan lama likuifikasi 120 menit. Viskositas relatif terendah terdapat pada konsentrasi enzim 0,025% (b/b) dengan lama likuifikasi 60 menit.

Analisis secara statistik menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi enzim

α -amilase dan lama likuifikasi berpengaruh sangat nyata ($\alpha=0,01$). Interaksi antar kedua perlakuan tidak berpengaruh nyata terhadap viskositas relatif sirup glukosa.

Rerata kadar gula pereduksi DE sirup glukosa akibat perlakuan konsentrasi enzim α -amilase dan lama likuifikasi dapat dilihat pada Tabel 1. Data ini merupakan data setelah pati hasil proses likuifikasi oleh enzim α -amilase dengan kondisi perlakuan yang berbeda dihidrolisis lebih lanjut oleh enzim dextrozyme yang merupakan campuran antara enzim glukamilase dan pullulanase tanpa adanya perbedaan kondisi proses.

Tabel 1. Rerata gula pereduksi sirup glukosa akibat perlakuan konsentrasi enzim α -amilase dan lama likuifikasi

Perlakuan		Kadar Gula Pereduksi (%)	Nilai DE
Konsentrasi Enzim (%)	Lama Likuifikasi (menit)		
0,025	60	22,72a	78,53a
	90	23,74b	82,57b
	120	24,17b	84,94b
0,045	60	23,67cd	85,78c
	90	24,6167d	91,71e
	120	24,6367d	91,80de
0,065	60	24,46d	89,13de
	90	24,30d	88,89d
	120	24,26d	87,49cd
DMRT 5%		2,43-2,77	0,34-0,39

Keterangan: Nilai rerata yang didampingi oleh huruf yang sama menyatakan tidak berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar gula pereduksi sirup glukosa pada perlakuan konsentrasi enzim 0,025 dan 0,045% (b/b) meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi α -amilase dan kemudian relatif konstan ketika konsentrasi enzim dinaikkan menjadi 0,065% (b/b). Sementara itu, lama proses likuifikasi tidak menyebabkan perbedaan aktivitas enzim α -amilase kecuali pada konsentrasi enzim 0,025% (b/b) yang terlihat pengaruhnya. Namun demikian dari hasil analisis ragam kadar gula pereduksi menunjukkan bahwa interaksi perlakuan penambahan konsentrasi enzim α -amilase dan lama likuifikasi ber-

pengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai kadar gula pereduksi.

Tidak meningkatnya kadar gula pereduksi pada saat konsentrasi enzim dinaikkan menjadi 0,065% b/b diduga karena adanya transglukosidase dalam glukoamilase yang membantu terjadinya reaksi kebalikan. Transglukosidase dapat menurunkan produksi glukosa dengan membentuk oligosakarida dengan ikatan α -1,6 glikosidik. Oligosakarida ini sangat resisten terhadap hidrolisis sehingga dapat menurunkan rendemen glukosa yang diperoleh.

Dekstrosa Ekuivalen (DE)

Dekstrosa ekuivalen (DE) menyatakan kadar gula pereduksi yang dihitung sebagai dekstrosa (glukosa) berdasarkan basis bahan kering. Semakin tinggi DE larutan maka semakin tinggi pula kadar glukosa dan semakin rendah kadar dekstrin. Rerata nilai DE sirup glukosa akibat perlakuan konsentrasi enzim α -amilase dan lama likuifikasi berkisar antara 22,72-24,64.

Data menunjukkan bahwa DE sirup glukosa meningkat seiring dengan peningkatan lama proses likuifikasi pada semua tingkat perlakuan konsentrasi enzim. Nampak bahwa proses hidrolisis molekul amilosa dan amilopektin dalam molekul pati sangat dipengaruhi oleh konsentrasi enzim α -amilase dan lama proses likuifikasi. Konsentrasi enzim 0,045% (b/b) dengan waktu inkubasi 120 menit merupakan perlakuan yang terbaik ditinjau dari kemampuan hidrolisis enzim terhadap substrat pati.

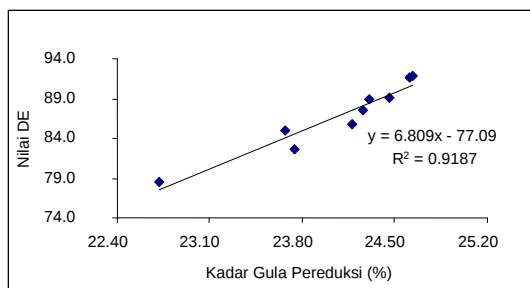
Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa interaksi perlakuan penambahan konsentrasi enzim α -amilase dan lama likuifikasi berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai DE. Hal ini menunjukkan bahwa afinitas enzim α -amilase terhadap substrat amilosa dan amilopektin. Interaksi yang terjadi adalah tidak searah yaitu semakin tinggi konsentrasi α -amilase dan lama likuifikasi, nilai DE menurun. Namun pada konsentrasi tertinggi dan waktu likuifikasi yang lama,

nilai DE menurun. Pada konsentrasi enzim 0,045% (b/b) dan lama likuifikasi 120 menit jumlah enzim yang terdapat pada suspensi pati telah mengalami kejenuhan sehingga penambahan konsentrasi enzim ke dalam suspensi pati tidak akan meningkatkan aktivitas enzim α -amilase dalam menghidrolisis pati.

Menurut Whitaker (1996), penambahan konsentrasi enzim akan meningkatkan kecepatan reaksi bila substrat tersedia secara berlebih. Namun peningkatan kecepatan reaksi akan semakin menurun untuk setiap penambahan konsentrasi enzim. Olsen (1995) menambahkan bahwa peningkatan nilai gula pereduksi akan mencapai titik batas, setelah titik itu terlampaui maka tidak akan terjadi perubahan nilai gula pereduksi yang lebih tinggi lagi meskipun konsentrasi enzim ditambahkan dan waktu likuifikasi diperpanjang. Hal ini terjadi karena sisi aktif enzim telah jenuh oleh substrat sehingga tidak ada lagi substrat yang dapat melekat pada sisi aktif. Menurut Lehninger (1997), batas tersebut disebut sebagai kecepatan maksimum yaitu kecepatan ketika enzim telah jenuh dengan substrat. Pada saat tercapai kecepatan maksimum semua enzim terdapat dalam kompleks enzim substrat.

Terjadinya perbedaan kecepatan reaksi enzimatik pada proses likuifikasi molekul amilosa dan amilopektin oleh α -amilase sebagai akibat dari perbedaan perlakuan akan menimbulkan efek yang berbeda pula terhadap kecepatan reaksi enzimatik proses sakarifikasi oleh enzim dextrozyme. Enzim glukoamilase yang dikenal sebagai eksoamilase dapat bekerja secara efektif bila substrat merupakan hasil hidrolisis amilosa sebagai hasil proses likuifikasi. Dengan demikian, maka dapat dipahami, bila semakin efektif proses likuifikasi, maka akan semakin mempermudah proses sakarifikasi oleh enzim glukoamilase.

Pada Gambar 1 ditunjukkan korelasi antara kadar gula pereduksi pada sirup glukosa dengan nilai DE.



Gambar 1. Grafik korelasi antara gula pereduksi dan nilai DE akibat perlakuan konsentrasi enzim α -amilase dan lama likuifikasi

Gambar 1 menunjukkan korelasi positif antara DE dan gula pereduksi dengan nilai determinasi 0,92 yang berarti 92% nilai DE sirup glukosa ditentukan oleh gula pereduksi. Semakin tinggi gula pereduksi sirup glukosa maka nilai DE sirup glukosa akan meningkat. Dengan kata lain peningkatan DE dan gula pereduksi menunjukkan bahwa proses hidrolisis pati garut menjadi molekul glukosa berjalan secara sangat efisien.

Aktivitas enzim dextrozyme

Pada penelitian tahap kedua difokuskan pada studi tentang pengaruh konsentrasi enzim dextrozyme dan lama sakarifikasi terhadap efektifitas produksi gula cair. Rerata kadar gula pereduksi dan nilai DE sirup glukosa akibat perlakuan konsentrasi enzim dextrozyme dan lama likuifikasi dapat dilihat pada Tabel 2. Data ini merupakan data setelah pati hasil proses likuifikasi oleh enzim amilase dihidrolisis lebih lanjut oleh enzim dextrozyme yang merupakan campuran antara enzim glukamilase dan pullulanase pada kondisi proses yang berbeda. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai kadar gula pereduksi dari sirup glukosa meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi dextrozyme dan lama proses sakarifikasi.

Kadar gula pereduksi terendah terdapat pada perlakuan konsentrasi enzim dextrozyme 0,04% (b/b) dan lama sakarifikasi 24 jam. Adapun kadar gula pereduksi tertinggi dijumpai pada perlakuan konsentrasi enzim 0,08% (b/b) dan lama

sakarifikasi 24 jam yaitu 24,88%. Bila pada konsentrasi enzim 0,04% (b/b) dan 0,06% (b/b) peningkatan lama sakarifikasi akan diikuti dengan peningkatan hidrolisis molekul amilosa dan amilopektin menjadi glukosa, maka pada konsentrasi 0,08% (b/b) peningkatan lama sakarifikasi justru menunjukkan penurunan kadar gula pereduksi.

Tabel 2. Kadar gula pereduksi dan nilai DE sirup glukosa akibat perlakuan penambahan konsentrasi enzim dextrozyme

Konsentrasi Dextrozyme (%)	Lama Sakarifikasi (Jam)	Kadar Gula Pereduksi (%)	Nilai DE
0,04	24	22,65 a	82,10 a
	48	23,22 b	84,44 b
	72	23,45 b	85,64 c
0,06	24	23,52 b	86,80 d
	48	24,33 cd	90,84 e
	72	24,52 cd	91,44 ef
0,08	24	24,88 d	92,14 f
	48	24,64 d	91,66 ef
	72	24,26 c	87,49 d
DMRT ($\alpha=5\%$)		0,29-0,32	1,06-1,22

Keterangan: Nilai rerata yang didampingi oleh huruf yang sama menyatakan tidak berbeda nyata ($\alpha=0,05$)

Fenomena ini terjadi karena pada konsentrasi dextrozyme 0,08% (b/b) sudah banyak substrat yang terhidrolisis menjadi gula-gula pereduksi (glukosa). Penambahan lama proses sakarifikasi tidak akan meningkatkan kadar gula pereduksi, namun justru cenderung menurunkan kadar gula pereduksi. Penurunan kadar gula pereduksi diduga disebabkan terjadinya reaksi balik yang membentuk maltosa dan isomaltosa (Fullbrook, 1984).

Hasil analisis ragam kadar gula pereduksi sirup glukosa menunjukkan bahwa interaksi perlakuan penambahan konsentrasi enzim dextrozyme dan lama sakarifikasi berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap nilai kadar gula pereduksi.

Nilai DE setelah Sakarifikasi

Rerata nilai DE sirup glukosa akibat perlakuan konsentrasi enzim dextrozyme dan lama sakarifikasi berkisar

82,10-92,14. Data menunjukkan bahwa DE sirup glukosa meningkat seiring dengan peningkatan lama sakarifikasi pada semua konsentrasi enzim. Peningkatan tersebut diduga disebabkan substrat dari hasil likuifikasi yang harus dihidrolisis lebih lanjut masih banyak. Pada proses likuifikasi enzim α -amilase menghidrolisis pati menjadi glukosa, maltosa, maltotriosa, dan berbagai jenis α -limit dekstrin, yaitu oligosakarida yang terdiri dari 4 atau lebih residu gula yang banyak mengandung ikatan α -1,6 glikosidik (Winarno, 1995). deMan (1997) menambahkan bahwa ikatan α -1,6 glikosidik dapat dihidrolisis oleh enzim glukamilase dan enzim pullulanase yang terdapat dalam dextrozyme, sehingga untuk memecah substrat-substrat tersebut dibutuhkan enzim dextrozyme yang banyak dan waktu inkubasi (sakarifikasi) yang lebih lama agar diperoleh glukosa tinggi, yang berarti akan meningkatkan nilai DE sirup glukosa tersebut.

Pada konsentrasi enzim dextrozyme 0,08% (b/b), proses sakarifikasi selama 24 jam mencapai titik tertinggi yaitu nilai DE sebesar 92,14. Pada saat lama proses dinaikkan menjadi 48 jam terjadi sedikit penurunan nilai DE menjadi 91,66. Namun pada saat lama sakarifikasi dinaikkan menjadi 72 jam, terjadi penurunan nilai DE menjadi 87,49. Kemungkinan pada saat konsentrasi enzim dextrozyme 0,08% (b/b), semua substrat pati telah membentuk kompleks dengan enzim dan dalam 24 jam produksi gula mencapai maksimum.

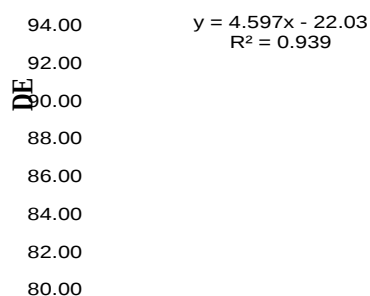
Selanjutnya pada saat lama waktu dinaikkan menjadi 72 jam jumlah substrat pati telah berkurang dan mengakibatkan jumlah yang terkonversi menjadi gula menurun drastis. Hal ini sesuai dengan pernyataan Olsen (1995) bahwa peningkatan nilai gula pereduksi akan mencapai titik batas, setelah titik itu terlampaui maka tidak akan terjadi perubahan nilai gula pereduksi yang lebih tinggi lagi meskipun konsentrasi enzim ditambahkan dan waktu sakarifikasi diperpanjang. Hal ini terjadi karena sisi aktif enzim telah

jenuh oleh substratnya sehingga tidak ada lagi substrat yang dapat melekat pada sisi aktif enzim.

Menurut Lehninger (1997) batas tersebut disebut sebagai kecepatan maksimum yaitu kecepatan ketika enzim telah jenuh dengan substratnya. Chaplin and Bucke (2004) mengemukakan bahwa inkubasi yang terlalu lama dapat menurunkan nilai DE sebagai akibat dari terjadinya reaksi kebalikan dari glukosa yang terbentuk menjadi isomaltosa. Anonim (2004) menyatakan bahwa proses sakarifikasi yang terlalu lama dan kandungan glukosa yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya reaksi kebalikan dari glukosa menjadi maltosa, isomaltosa, dan oligosakarida dengan cara kondensasi. Tjokroadikoesoemo (1993) menyatakan bahwa reaksi balik tersebut lebih cepat pada larutan-larutan dengan kandungan dekstrosa tinggi. Selain alasan tersebut di atas, diduga sebagian enzim glukamilase yang terkandung dalam enzim dextrozyme juga mengandung enzim transglukosidase yang bekerja sebagai katalisator dalam sintesa molekul glukosa ke molekul-molekul glukosa yang lain pada ikatan α -1,6 glikosidik. Ikatan ini sangat sulit diputuskan kembali, sehingga mengurangi produksi glukosa (Anonim, 2004).

Hasil analisis sidik ragam DE menunjukkan bahwa interaksi perlakuan konsentrasi enzim dextrozyme dan lama sakarifikasi berpengaruh sangat nyata ($\alpha=0,01$) terhadap afinitas enzim dextrozyme terhadap substrat amilosa dan amilopektin.

Efektifitas aktivitas dextrozyme yang terdiri dari glukamilase dan pullulanase tidak terlepas dari proses sebenarnya, dimana molekul amilosa khususnya amilopektin yang telah dihidrolisis dari bagian dalam rantai oleh enzim α -amilase dalam proses likuifikasi. Pada Gambar 2 ditunjukkan korelasi antara kadar gula pereduksi dan nilai DE pada sirup glukosa



Gambar 2. Grafik hubungan antara kadar gula pereduksi (%) dan nilai DE sirup glukosa dari pati garut

Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi gula pereduksi sirup glukosa maka nilai DE sirup glukosa akan meningkat. Dengan kata lain peningkatan nilai DE dan gula pereduksi menunjukkan bahwa proses hidrolisis pati garut menjadi molekul glukosa berjalan secara sangat efisien.

KESIMPULAN

Pati garut dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan sirup glukosa yang diproses secara enzimatik yang melalui tahap proses likuifikasi dan sakarifikasi yang berlangsung secara sinergis. Tahap likuifikasi dengan menggunakan enzim α -amilase terbaik pada konsentrasi 0,045% (b/b) selama 1,5 jam proses dengan kadar gula pereduksi sebesar 24,64% dan DE sebesar 91,80. Tahap sakarifikasi dengan menggunakan enzim dextrozyme (campuran glukamilase dan pullulanase) terbaik adalah pada konsentrasi 0,08% (b/b) dan lama proses 24 jam dengan kadar gula pereduksi 24,88% dan nilai DE sebesar 92,14.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2002. *Laboratory scale production of maltodextrins and glucose syrup from banana starch*. Food Technology 53: 44-48
- Anonim. 2004. Fungal Glucoamylase for Starch Hydrolysis. <http://www.deerland-enzymes.com>. Tanggal akses 15 Oktober 2005
- AOAC. 1970. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati, dan S. Budiyo. 1989. Analisis Pangan. PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor
- Chaplin, M. and C. Bucke. 2004. Enzyme Technology. <http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/glucose.html>. Tanggal akses 20 Oktober 2005
- Erianti, L. 2004. Kajian Hidrolisis Pati Garut Menggunakan Enzim α -Amilase dan Kombinasi Enzim α -Amilase dan Pullulanase dalam Proses Produksi Siklodekstrin. Skripsi. Fateta, IPB, Bogor
- Fullbrook, P. D. 1984. The Enzymatic Production of Glucose Syrup. Blackie Academic and Profesional, London
- Gorinstein, S., C.G. Oates, S.M. Chang, and C.Y. Lii. 1994. *Enzymatic hydrolysis of sago starch*. J. Food Chem. 49(4): 411-417
- Kearsley, M.W. and Dziedzic. 1995. Handbook of Starch Hydrolysis Product and Their Derivates. Blackie Academic and Professional, London
- Lehninger, A.L. 1997. Dasar-dasar Biokimia. Jilid I. Alih Bahasa: Maggy Thenawidjaja. Erlangga, Jakarta
- Marlida, Y., N.Z. Saari, S. Hassan, S. Radu, and J. Bakar, 2000. *Purification and characterization of sago starch-degrading glucoamylase from Acremonium sp. endophytic fungus*. Food Chem. 71: 221-227
- Maruta, I., Y. Kurahashi., R. Takano., K. Hayashi., K. Kudo, and S. Hara. 1998. *Enzymic digestibility of reduced-pressurized, eat-moisture treated starch*. J. Food Chem. 61(1/2):163-165
- Primarini, D. and O. Yoshiyuki, 2000. *Some enzyme properties of raw starch digesting amylases from*

- Streptomyces sp. starch*. J. of Food Sci. 52: 28–32
- Richana, N., P. Lestari, N. Chilmijati, dan S. Widowati. 2000. Karakterisasi bahan berpati (tapioka, garut dan sagu) dan pemanfaatannya menjadi glukosa cair. Dalam L. Nuraida, R. Dewanti., Hariyadi, S. Budjianto (ed). Prosiding Seminar Nasional Industri Pangan. Volume I. PATPI, Surabaya. Hal. 396-406
- Stamford, T.L.M., N.P. Stamford, L.C.B.B. Coelho, and J.M. Araújo, 2002. *Production and characterization of a thermostable glucoamylase from Streptosporangium sp. endophyte of maize leaves*. Bioresource Technol. 83: 105–109
- Thomas, M., F.G. Priest, and J.R. Stark, 1980. *Characterization of an extracellular α -amylase from Bacillus megaterium sensu strict.* J. Gen. Microbiol. 118: 67–72
- Tjokroadikoesoemo, P.S. 1993. HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya. PT Gramedia, Jakarta
- Whitaker, J.R. 1996. Enzymes. Di dalam O.R. Fennema (ed). Food Chemistry. Third edition. Marcell Dekker, Inc., New York and Basel
- Whitehurst, R.J. and B.A. Law. 2002. Enzymes in Food Technology. Sheffield Academic Press, Canada
- Winarno, F.G. 1995. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia. Jakarta
- Yitnosumarto, S. 1991. Percobaan: Perancangan, Analisis, dan Interpretasinya. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Yuwono, S.S. dan T. Susanto. 1998. Pengujian Sifat Fisik Pangan. FTP, Unibraw, Malang