

Kecepatan Reaksi Hidrolisis Pati Ubi Jalar Putih Menggunakan Enzim A-Amilase

Speed of Hydrolysis of White Sweet Potato Starch Using Amylase Enzyme

Hermawati Harun^{1*}, Amran Laga²

*Email: hadijah.umpar99@gmail.com

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Bosowa

²Program Studi Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin

Diterima: 21 September 2021 / Disetujui: 24 Desember 2021

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kecepatan reaksi hidrolisis pati ubi jalar putih menggunakan enzim -amilase. Suspensi pati ubi jalar ditambahkan enzim -amilase sebanyak 0,1% b/b dari berat kering pati ubi jalar putih. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 70 °C (suhu gelatinisasi) dengan pengadukan pada kecepatan 200 rpm. Ketika suhu dalam media reaksi mencapai suhu 70 °C, sampel diambil setiap 15 menit sampai 180 menit untuk pengamatan. Dari hasil penelitian didapatkan konstanta kinetika reaksi hidrolisis dan kecepatan maksimum pati ubi jalar putih secara enzimatik berturut-turut $K_m = 13,2548$ g/L $V_{max} = 0,079058$ g/L.menit

Kata Kunci: Hidrolisis, Enzim -Amilase, Pati Ubi Jalar Putih, Mechalis- Menten

ABSTRACT

This research was to determine the speed of hydrolysis reaction of white sweet potato starch using -amylase enzyme. Sweet potato starch suspension was added with α -amylase enzyme as much as 0.1% w/w of the dry weight of white sweet potato starch. Furthermore, incubation was carried out at a temperature of 70 °C (gelatinization temperature) with stirring at 200 rpm. When the temperature in the reaction medium reached a temperature of 70 °C, samples were taken every 15 minutes until 180 minutes to observation. From the results of the study, it was found that the kinetic constant of the hydrolysis reaction and the maximum speed of white sweet potato starch enzymatically, respectively $K_m = 13.2548$ g/L $V_{max} = 0.079058$ g/L.menit

Keywords: Hydrolysis, A-Amylase Enzyme, White Sweet Potato Starch, Mechalis- Menten



This work is licensed under Creative Commons Attribution License 4.0 CC-BY International license

A. PENDAHULUAN

Ubi jalar putih adalah salah satu species ubi jalar yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Kelebihan dari tanaman ini adalah tidak memerlukan perawatan dan pertumbuhannya yang cepat. Masa tanam hanya memerlukan waktu 3 -4 bulan, sehingga tanaman ini dapat dipanen 2 – 3 kali dalam setahun. Berdasarkan data BPS (28 maret 2021)

Sulawesi Selatan 2015, produktivitas ubi jalar se Sulawesi Selatan adalah 71.681 ton. Tanaman ubi jalar putih mengandung total pati 17,25% lebih besar dibandingkan dengan ubi jalar oranye yang hanya mengandung 7,61%, dan ubi jalar ungu 12,51% (Hermawati dkk, 2013)). Potensi ubi jalar putih yang cukup besar, tidak hanya sebagai

makanan pokok, tetapi pati yang terkandung di dalam ubi jalar dapat dimodifikasi lebih lanjut seperti menjadi maltodekstrin dan sirup gula dekstrosa.

Maltodekstrin adalah polimer glukosa dengan panjang rantai rata-rata berkisar 5- 10 unit glukosa per molekulnya. Produk ini merupakan salah satu produk modifikasi pati yang dibuat dari hasil hidrolisis pati, baik melalui proses enzimatis yang terkendali atau dengan cara hidrolisis asam. Namun dari hidrolisis asam dihasilkan glukosa bebas yang tinggi dan produknya cenderung menjadi larutan yang pucat (Kennedy et al dalam Nur Richana dkk).

Maltodekstrin atau dekstrin sebagai salah satu produk pati termodifikasi dapat digunakan dalam berbagai bidang industri pangan dan non-pangan. Dalam bidang pangan antara lain digunakan sebagai bahan pengisi, pengental dan penstabil. Kebutuhan maltodekstrin terutama di Indonesia, setiap tahun akan meningkat seiring dengan perkembangan industri makanan dan minuman. Kelebihan maltodekstrin dibandingkan pati adalah dapat bercampur dengan air suhu kamar membentuk koloid.

Maltodekstrin dengan DE tinggi (15-20) akan menghasilkan larutan yang encer dan dapat memberi rasa manis.

Hampir semua jenis pati dapat digunakan sebagai bahan baku maltodekstrin. Di Indonesia sumber pati pating banyak dan mudah diperoleh adalah pati ubi kayu atau tapioka.

Dalam aplikasinya, maltodekstrin dapat memberi kekerasan dan tekstur dalam produk pangan. Maltodekstrin yang mengandung dekstrin ekuivalen (DE) rendah dan mengandung sakarida tinggi 95% mempunyai sifat gel yang dapat lumer dan bersifat *thermoreversible*, sehingga dapat diaplikasikan sebagai pengganti lemak dalam produk pangan. Nilai energi maltodekstrin mencapai 50% nilai energi lemak dan minyak. Menurut Hidayat (2002) maltodekstrin dapat ditambahkan pada minuman olahraga sebagai sumber energi.

Hidrolisis pati dapat dilakukan menggunakan asam atau enzim. Hidrolisis menggunakan asam sebagai katalis akan memiliki persamaan kinetika elementer. Jika menggunakan enzim sebagai katalis, maka aktivitas enzim terhadap substrat akan berpengaruh dan ikatan yang terputus akan spesifik pada ikatan α -1,4-glikosidik. Hidrolisis pati pisang tanduk menggunakan asam klorida menghasilkan reaksi orde satu semu dan konstanta kecepatan reaksinya (k) adalah 0,007383 L/menit (Murni Y, dkk, 2011). Produksi

maltodektrin dari pati ubi jalar putih menggunakan enzim α -amilase menggunakan reaktor batch karena kekentalan suspensi pati pada saat mengalami proses gelatinisasi akan meningkat. Pada saat pati dari ubi jalar putih sudah mengalami proses gelatinisasi, maka aktivitas enzimatis enzim α -amilase akan meningkat untuk menghidrolisis pati menjadi maltodektrin. Enzim biasanya merupakan molekul protein yang memanipulasi molekul lain (substrat enzim) dan berikatan dengan suatu sisi aktif enzim kemudian berubah menjadi produk. Reaksi enzimatis hidrolisis pati ubi jalar menggunakan enzim α -amilase diasumsikan mengikuti mekanisme Michaelis – Menten yaitu:



Notasi E dan S adalah enzim dan substrat, ES adalah enzim substrat kompleks, dan P merupakan produk.

Proses dekstrinisasi dilakukan hingga diperoleh nilai DE yang diinginkan. Dengan mengatur waktu reaksi atau dengan mengatur dosis enzim, maka nilai DE dapat dikendalikan. Jenis dan konsentrasi pati yang akan dihidrolisis akan menghasilkan kecepatan reaksi enzimatis yang spesifik yang

menjadi dasar dalam desain reaktor hidrolisis pati.

Tipe enzim α -amilase diklasifikasikan sesuai dengan cara memotong ikatan glikosidik. α -amilase menghidrolisis α -1,4-glikosidik, secara acak menghasilkan dekstrin, oligosakarida dan monosakarida. α -amilase adalah endo-amilase yang menghidrolisis α -1,4-glikosidik linkage hanya dari non-pereduksi ujung rantai polisakarida luar. Enzim exoamylase lainnya termasuk β -amilase dan glucoamylase (γ -amilase, amylo- glucosidase).

Enzim α -amilase memiliki gugus karboksil dan nitrogen pada sisi aktifnya. Substrat membentuk kompleks adsorpsi dengan enzim dimana posisi ikatan glukosidik dalam posisi saling berhadapan dengan gugus karboksil dan kelompok imidazol. Anion karboksil menyerang bagian nukleofil C(1) dari substrat yang bertujuan untuk menetralkan rantai ion amidazol. Pada reaksi deglukosilasi, kelompok imidazol menjadi dasar untuk memisahkan komponen air pada posisi C(1). Aktivitas enzim α -amilase dapat diukur berdasarkan penurunan kadar pati yang larut atau jumlah gula pereduksi yang terbentuk (Kanno, 1988).

α -amilase adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis dari α -1,4-glikosidik amilosa pati menghasilkan glukosa. Jumlah glukosa yang dihasilkan selama reaksi enzimatik diukur dengan menggunakan pereaksi dinitrosalicylic acid (DNS) pada panjang gelombang 550 nm. Semakin tinggi nilai absorbansi yang dihasilkan, semakin banyak pula gula pereduksi (glukosa) yang terkandung dalam sampel. Larutan DNS yang awalnya berwarna kuning akan bereaksi dengan gula reduksi sehingga menimbulkan warna jingga kemerahan.

Kelebihan menggunakan katalis enzim dibandingkan menggunakan katalis asam adalah produk yang dihasilkan lebih murni, pemisahan produk lebih, dan jumlah enzim yang digunakan sangat kecil sehingga tidak mempengaruhi produk hidrolisis. Aktivitas enzim memerlukan kondisi yang spesifik agar kinerja bisa lebih optimal. Ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan antara lain suhu, derajat keasaman (pH), konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, dan inhibitor (Wiseman, A., 1989).

Dalam menentukan kinetika hidrolisis enzim, maka nilai aktivitas enzimatik reaksi hidrolisis pati ubi jalar putih dan kecepatan maksimum penguraianya perlu diketahui. Untuk

mendapatkan nilai aktivitas enzimatik dan kecepatan maksimum, dapat digunakan persamaan Michaelis – Menten:

$$-r_s = \frac{V_{\max}S}{K_M + S} \quad (2)$$

Persamaan Michaelis – Menten adalah hubungan antara laju reaksi enzim dan konsentrasi substrat. Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk mendapatkan nilai konstanta. Salah satunya adalah menggunakan metode Lineweaver – Burk yang merupakan bentuk penyederhanaan persamaan Michaelis – Menten dengan membentuk persamaan linear, sehingga nilai V_{\max} dan K_M hidrolisis pati ubi jalar putih dapat diketahui:

$$\frac{1}{-r_s} = \frac{K_M + S}{V_{\max}S} \quad (3)$$

$$\frac{1}{-r_s} = \frac{K_M}{V_{\max} \cdot S} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (4)$$

Adapun nilai r_s didapatkan dari data percobaan menggunakan persamaan:

$$r_s = \frac{dC}{dt} \quad (5)$$

Tujuan penelitian ini adalah menentukan konstanta Michaelis – Menten dan kecepatan hidrolisis maksimum pati ubi jalar putih menggunakan enzim α -amilase menggunakan persamaan Michaelis – Menten.

B. METODE PENELITIAN

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ubi jalar, dan enzim α -amilase (Termamyl 120 KNU/g), pullulanase dan amiloglukosidase (AMG) yang dapat diperoleh dari Novo Nordisk (Denmark). Bahan kimia utama yang digunakan antara lain adalah Pb-asetat, CaCl_2 , CaCO_3 , PbO, NaOH.

Penelitian dimulai dengan ekstraksi pati ubi jalar putih ekstraksi pati dengan memarut, menambahkan air dan menyaring untuk memisahkan pati dengan serat. Pemisahan air dengan pati dengan mendiamkan selama 4 jam hingga didapatkan endapan pati dan air yang sudah membentuk dua fase. Hasil ekstraksi berupa endapan dikeringkan di bawah sinar matahari selama dua hari. Kadar air pati ubi jalar yang digunakan adalah 12- 14%.

Pembuatan suspensi pati ubi jalar dengan menambahkan aquades dengan perbandingan 1 : 2. Keasaman diatur pada pH 5 menggunakan NaOH 0,2 N serta penambahan ion kalsium sebanyak 12 ppm sebagai nutrisi enzim. Suspensi pati ubi jalar tersebut ditambahkan enzim α -amilase sebanyak 0,1 % b/b dari bobot kering pati ubi jalar. Enzim yang digunakan adalah enzim murni mengurangi gangguan dari inhibitor.

Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 70°C (suhu gelatinisasi pati ubi jalar putih) (Hermawati, 2013) dengan kecepatan pengadukan 200 rpm. Pada saat suhu dalam medium reaksi mencapai suhu 70°C dilakukan pengambilan sampel setiap 15 menit dengan waktu pengamatan 180 menit. Parameter yang diukur selama proses likuifikasi adalah kadar pati sisa secara spektrofotometer (metode Iod). Percobaan dilakukan dengan ulangan sebanyak dua kali.

Parameter yang dihitung dalam kinetika reaksi hidrolis pati ubi jalar putih menggunakan enzim α -amilase adalah nilai kecepatan maksimum (V_{maks}), dan konstanta Michaelis-Menten (K_m). Nilai K_m yang diukur menunjukkan besarnya konsentrasi substrat yang dicapai pada kecepatan $\frac{1}{2} V_{\text{maks}}$. Dari kadar pati sisa yang terukur, dilakukan perhitungan untuk mendapatkan K_m dan V_{maks} menggunakan persamaan (4) dan kecepatan reaksi enzimatik (r_s) menggunakan persamaan (5) dengan metode regresi *Lineweaver-Burk*.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses hidrolisis pati ubi jalar putih menggunakan enzim α -amilase menghasilkan maltodektrin dan glukosa dilihat dari perubahan konsentrasi pati tersisa . Penentuan pati sisa

menggunakan data absorbansi spektrofotometer UV-Vis seperti yang terlihat pada tabel 1. Pati sisa ini menjadi acuan untuk menentukan berapa banyak pati ubi jalar putih yang terkonversi. Konversi pati menjadi maltodekstrin dan glukosa, dilihat dari nilai dekstrosa ekivalen (DE). Jika DE antara 15 – 20, maka pati terkonversi menjadi maltodekstrin dan jika lebih dari 20 maka pati akan terkonversi menjadi glukosa (Richardson, 2002).

Tabel 1. Hubungan Absorbansi Dengan Konsentrasi

T (menit)	Absorbansi	Faktor pegenceran	Konsentrasi (g/L)
15	0,334	40	25,491
30	0,469	25	22,895
45	0,538	16	16,931
60	0,316	25	15,003
75	0,571	15	16,894
90	0,46	20	17,945
105	0,658	3	3,917
120	0,139	4	0,940
135	0,166	3	0,872
150	0,153	2	0,528
165	0,134	2	0,449
180	0,132	2	0,441

Perhitungan waktu nol dimulai ketika kekentalan gel pati mulai berkurang ditandai dengan mencairnya pati. Hal ini menunjukkan bahwa pati sudah mulai terhidrolisis menjadi ikatan-ikatan yang lebih sederhana (Kanno, 1988). Dari tabel 1 terlihat bahwa pada waktu 90 menit ke 105 menit perubahan

pati sisa terbesar besar dan pada menit 150 hingga 180, perubahan pati sisa sangat kecil berarti mendekati waktu kesetimbangan reaksi di mana hampir tidak ada lagi pati yang terhidrolisis. Perubahan pati terbesar dari menit ke 90 ke 105 menit karena pati ubi jalar putih sebagian besar sudah menjadi maltodekstrin, dimana rantai Cnya (hingga C10) lebih pendek dari rantai C pati sehingga energi yang digunakan untuk memutuskan ikatan menjadi monosakarida dan disakarida menjadi lebih kecil. Pemutusan ikatannya juga menjadi lebih cepat (Richardson, et al, 2002). Hal ini ditandai dengan perubahan pati sisa yang besar.

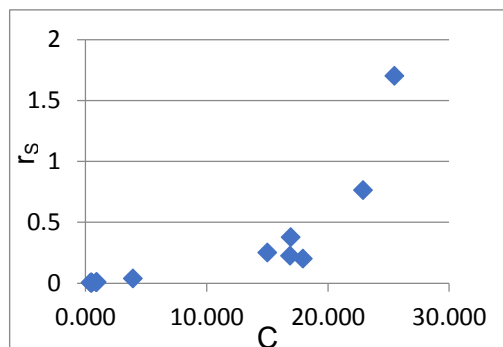
Jika produk yang diinginkan adalah maltodekstrin, maka waktu reaksi hidrolisis berdasarkan data tabel 1 adalah di bawah 45 menit karena DE yang didapatkan sekitar 20. Apabila hasil hidrolisis pati dengan enzim α -amilase yang diinginkan adalah sirup glukosa, maka waktu hidrolisis di atas menit ke 45 karena sebagian molekul pati sudah terurai menjadi molekul yang rantai karbonnya lebih pendek, kemudian dilanjutkan dengan hidrolisis menggunakan enzim lainnya.

Dari gambar 1 terlihat bahwa kecepatan reaksi enzimatik pati ubi jalar

akan meningkat jika konsentrasi substrat masih besar dan akan cenderung stabil saat konsentrasi substrat kecil. Hal ini menunjukkan bahwa satu molekul enzim dapat mengkonversi sejumlah besar molekul substrat hingga semua sisi aktif enzim mengaktifkan dengan substrat sehingga lebih mudah berubah menjadi dekstrin. Besarnya jumlah substrat yang dikatalis oleh enzim bergantung dari jumlah sisi aktif enzim (Fogler, 1994). Dari gambar 1., hubungan kecepatan reaksi dengan konsentrasi belum bisa menentukan V_{max} dan K_m sehingga perlu linearisasi persamaan Michaelis-Menten yang dapat dilakukan menggunakan beberapa cara, salah satunya metode Lineweaver-Burk (persamaan (5))

Tabel 2. Kecepatan reaksi enzimatis Pati Ubi Jalar Menggunakan Enzim α -amilase Terhadap waktu Hidrolisis

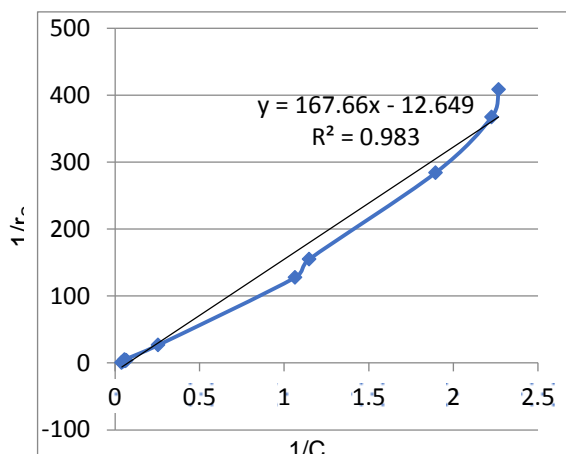
Waktu (menit) (t)	Konsentrasi pati sisa (ppm) (C)	Kecepatan reaksi enzimatis (r_s)	$1/r_s$	$1/C$
15	25,491	1,699	0,588	0,039
30	22,895	0,763	1,310	0,0437
45	16,931	0,376	2,658	0,059
60	15,003	0,250	3,999	0,067
75	16,894	0,225	4,440	0,059
90	17,945	0,199	5,015	0,056
105	3,917	0,037	26,805	0,255
120	0,940	0,008	127,689	1,064
135	0,872	0,006	154,824	1,147
150	0,528	0,004	284,273	1,895
165	0,449	0,003	367,271	2,226
180	0,441	0,002	408,157	2,268



Gambar 1. Grafik hubungan kecepatan reaksi dengan konsentrasi

Penentuan waktu hidrolisis sangat berperan dalam menentukan kinetika reaksi enzimatis pati ubi jalar putih. Kecepatan reaksi hidrolisis pati ubi jalar dapat diketahui dengan menggunakan data tabel 2. dan dihitung menggunakan persamaan 5. Grafik hubungan $1/r_s$ terhadap $1/C$ seperti yang terlihat pada gambar 2, yang merupakan persamaan linear Michaelis-Menten yang dimodifikasi menggunakan metode grafik *Lineweaver Burk*. Dari grafik didapatkan persamaan linear adalah $y = 167,66x - 12,649$ dengan $R^2 = 0,983$. Jika dihubungkan dengan persamaan (4) didapatkan $V_{max} = 1/12,649 = 0,079058$ gr/L.menit dan $K_m = V_{max} \times 167,66 = 13,2548$ g/L, sehingga persamaan kinetika reaksi kecepatan hidrolisis pati ubi jalar putih secara enzimatis adalah:

$$-r_s = \frac{0,079 S}{13,2548 + S}$$



Gambar 2. Grafik Hubungan $1/r_s$ dengan $1/C$ Penentuan waktu hidrolisis

Dari nilai V_{max} diketahui bahwa jumlah konsentrasi enzim yang digunakan dalam hidolisis pati ubi jalar putih banyak substrat yang terhidrolisis oleh enzim dalam jumlah kecil dan nilai K_m menunjukkan kinerja enzim terhadap substrat. Besar kecilnya nilai kinetika enzimatis, dapat oleh sejumlah substrat (pati sisa). Dari Persamaan kinetika yang dihasilkan dapat digunakan untuk menentukan desain ukuran reactor dan lama reaksi terhadap jumlah substrat (pati ubi jalar putih) yang akan dihidrolisis. Dalam hal ini reaktor yang digunakan adalah reaktor batch berpengaduk karena keadaan pati pada saat mencapai gelatinisasi berwujud gel yang sulit untuk mengalami aliran fluida (Fogler, 1994). Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim seperti suhu, konsentrasi enzim, dan konsentrasi substrat menjadi variabel tetap sehingga reaksi hidrolisis

menggunakan enzim ini akan berubah nilai V_{mak} dan K_m jika variabel tetap tersebut berubah. Untuk mendapatkan nilai K_m dan V_{max} yang optimal, maka variabel-variabel tetap perlu diteliti lebih lanjut.

D. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan bahwa kecepatan reaksi hidrolisis pati ubi jalar didapatkan Konstanta kinetika reaksi hidrolisis pati ubi jalar putih secara enzimatis adalah $V_{max} = 0,079058$ g/L.menit dan $K_m = 13,2548$ g/L

DAFTAR PUSTAKA

- Ariandi, 2016, Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-Amylase) Dan Reaksi Enzimatisnya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa, Jurnal Dinamika, , halaman 74-82, Vol. 07. No. 1, ISSN 2087 - 7889
- Badan Pusat Statistik Provinsi Sulawesi Selatan, Sulsel.bps.go.id
- Dedi Noviendri, Yusro Nuri Fawzya, Dan Ekowati Chasanah, 2008, Karakteristik Dan Sifat Kinetika Enzim Kitinase Dari Isolat Bakteri T5a1 Asal Terasi, Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan Vol. 3 No. 2.
- Fogler, H. Scott, 1994, Element of Chemical Reaction Engineering, 2nd edition, Prentice-Hall of India
- Hermawati, dkk, 2013, Ekstraksi dan Karakterisasi Pati Beberapa Kolon Ubi Jalar, prosiding SN Teknologi Industri, Makassar.

- Hidayat, B. 2002. Optimasi Proses Produksi dan Karakterisasi Maltodekstrin Derajat Polimerisasi Moderat (DP 3-9) dari Pati Gandum. Tesis, Program Pascasarjana: Institut Pertanian Bogor
- Kanno T. 1988. Manufacture of Glucose, p 198-203. *Di dalam* The amylase research society of Japan (ed). Handbook of amylases and related enzymes. Pergamon Press. Oxford.
- Murni Yuniwati, dkk, 2011, Kinetika Reaksi Hidrolisis Pati Pisang Tanduk Dengan Katalisator Asam Chlorida, Jurnal Teknologi, Volume 4 Nomor 2, Hal. 107-112
- Nur Richana, Fiena Nursafira, Pujowono, Dan Hety Herawati: Optimasi Proses Produksi Maltodextrin Dam Tapioka Menggunakan Spray Dryer: Prosiding Seminar Nasional Teknologi Inovatif Pascapanen Untuk Pengembangan Industri Berbasis Pertanian, Balaf Besar Penelitian Dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
- Rahayuningsih, Y.Widodo dan T. S. Wahyuni (2000). Evaluasi daya hasil klon harapan ubi jalar dan kondisi terdara kekeringan di Muneg. Edisi khusus Balitkabi No. 16 – 2000.
- Richardson T.H., X. Tan, G. Frey, W. Callen, M. Cabell, D. Lam, J. Macomber, J. M. Short, D. E. Robertson, and C. Miller. 2002. A Novel, High Performance Enzyme for Starch Liquefaction. Discovery and Optimization of a Low pH, Thermostable Amylase. J. of Biological Chemistry. Vol. 277 (29). pp. 26501–26507.
- Wiseman, A. 1989. Handbook of Enzymes Biotechnology. 2nd. Edition. Ellis Howard, New York.