

PERBANDINGAN KONSENTRASI α -AMILASE SEBAGAI METODE ENZIMATIS TERMODIFIKASI DALAM PRODUKSI GLUKOMANAN DARI UMBI ILES-ILES (*Amorphophallus oncophyllus*)

[Comparison of α -amylase concentration as Enzymatic Modified Method in Glucomannan Production from Iles-iles Tubers (*Amorphophallus oncophyllus*)]

Indra Kurniawan Saputra^{1, 2*}, Edy Mulyono³

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Malang

²Program Studi Bioteknologi, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Malang

³Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian (BB Pascapanen)

Email*): indra.saputra.fmipa@um.ac.id

ABSTRACT

The glucomannan in iles-iles tubers needs to continuously develop the production procedures to increase the economic value of tubers, which are export commodities with a high level of demand. This study aimed to determine the effectiveness of increasing the α -amylase concentration on glucomannan levels, degree of whiteness (DoW), and their interactions. The method was modified to increase α -amylase concentration (2.5, 4.5, 6.5, and 8.5 % (v/v)) in 3 Litter of Water with a mixture of 100 grams of iles-iles flour. Meanwhile, the determination of DoW analyzed was used chromameter. The results showed that the best treatment was the α -amylase concentration of 2.5% (v/v) in 2 hours resulting in the highest glucomannan content compared to other concentrations. Based on the results of analysis of variance (ANOVA), it showed that the interaction between time and concentration and treatment time (2, 4, and 6 hours) and concentration (2.5, 4.5, 6.5, and 8.5% (v/v)) had a significant effect on glucomannan levels. However, the level of DoW was still experiencing an enlargement result compared with DoW of commercial glucomannan flour.

Keywords: α -amylase, degree of whiteness, glucomannan, Iles-iles tubers

ABSTRAK

Glukomanan dalam umbi iles-iles perlu terus dilakukan pengembangan prosedur produksi untuk meningkatkan nilai ekonomis umbi yang merupakan komoditas ekspor dengan tingkat permintaan tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas peningkatan konsentrasi enzim α -amilase terhadap kadar glukomanan, derajat putih dan interaksinya. Metode yang dilakukan merupakan metode modifikasi peningkatan konsentrasi enzim α -amilase 2.5, 4.5, 6.5 dan 8.5 % (v/v) dalam 3 L air dengan campuran 100 gr tepung iles-iles. Sedangkan penentuan derajat putih dianalisis dengan alat chromameter. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan terbaik didapatkan dengan konsentrasi enzim α -amilase 2.5% dengan waktu 2 jam menghasilkan kadar glukomanan tertinggi dibandingkan dengan kadar glukomanan perlakuan lainnya. Berdasarkan hasil analisis variansi (ANOVA) memperlihatkan interaksi antara waktu dan konsentrasi serta perlakuan waktu (2, 4, dan 6 jam) dan konsentrasi (2.5, 4.5, 6.5, dan 8.5 %) berpengaruh nyata terhadap kadar glukomanan. Akan tetapi tingkat keputihan masih mengalami pelebaran hasil dengan derajat keputihan tepung glukomanan komersial.

Kata kunci: α -amilase, derajat keputihan, glukomanan, iles-iles

PENDAHULUAN

Tanaman iles-iles (*Amorphophallus oncophyllus*) merupakan tanaman liar yang terus dibudidayakan karena kandungannya sebagai bahan tambahan pangan (BTP) dan pangan fungsional. Kandungan glukomanan merupakan

senyawa karbohidrat tertinggi yang ditemukan di dalam iles-iles. Iles-iles di Indonesia mengalami peningkatan ekspor ke China, Jepang, Korea, dan beberapa negara ASEAN lainnya dalam bentuk bahan mentah yang memiliki nilai ekonomis rendah (Kasno 2008). Maka, perlu dilakukan

eksplorasi lebih lanjut agar bahan yang diekspor adalah produk semi jadi seperti bubuk glukomanan.

Glukomanan dalam pati umbi iles-iles memiliki ikatan polimer β -1,4- Glikosidik antara manosa dan glukosa. Komposisi manosa dan glukosa dalam rasio molar yakni 1.6:1 dengan tingkat gugus asetil yang rendah pada posisi C-6 dari unit sakarida di sepanjang molekul per 19 residu gula (Dave & McCarthy 1997, Zhang *et al.* 2014). Di dalam industri makanan glukomanan memiliki kemampuan sebagai pengemulsi, pengental, pembentuk gel, dan penahan air yang telah lama dimanfaatkan oleh China, Jepang, dan Korea. Selain itu glukomanan telah tergolong senyawa yang aman (*Generally Recognizes as Safe* (GRAS)) bagi makanan oleh badan pengawas obat dan makanan (FDA) Amerika Serikat, dan diikuti oleh Kanada, serta Eropa (Gomez *et al.* 2017, Tester & Al-Ghazzawi 2016). Bagi kesehatan tubuh glukomanan dapat menurunkan berat badan, membentuk lapisan pelindung pada permukaan usus, menurunkan kadar glukosa, kolesterol, trigliserida, dan tekanan darah. Selain itu, dapat mencegah penyakit kronis melalui regulasi metabolisme (Devaraj *et al.* 2019).

Kadar glukomanan pada iles-iles berkisar antara 44-64% tergantung dari varietas tanaman (Ermiaji & Laksmanahardja 1996). Salah satu jenis iles-iles yang mempunyai kadar glukomanan paling tinggi adalah iles-iles kuning (*A. onchopyllus* Pr) yaitu sekitar 55-65% dari total padatan, sedangkan jenis lain yang mengandung glukomanan dalam jumlah yang cukup tinggi adalah iles-iles putih (*A. varibilis* B1) dengan kadar glukomanan sekitar 10-15% dari total padatan (Gumbira & Rahayu 2009). Namun kadar glukomanan dalam produksi tepung glukomanan masih belum optimal, maka perlu dilakukan prosedur yang berbeda dalam pemisahan glukomanan.

Pada umumnya purifikasi glukomanan dilakukan melalui fraksinasi kimiawi, tetapi masih menghasilkan tingkat kemurnian glukomanan yang rendah. Sejak diketahui bahwa glukomanan

terdapat dalam pati umbi iles-iles, potensi penggunaan enzim untuk melakukan pemotongan polisakarida lainnya terus dikembangkan. Pemotongan tersebut dapat dilakukan dengan enzim α -amilase. Enzim α -amilase akan menghidrolisis pati menjadi polimer-polimer polisakarida yang lebih sederhana (Zheng *et al.* 2015). Glukomanan dalam aktivitas enzim α -amilase tidak akan mengalami hidrolisis dikarenakan α -amilase akan melakukan pemotongan pada ikatan alfa glikosidik. Sehingga dalam penelitian ini didapatkan kondisi optimal dalam penggunaan α -amilase untuk meningkatkan kadar glukomanan.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik, sentrifus, *shacker*, *vertical agitator*, gelas kimia (250 mL dan 500 mL), *dry blender*, gelas ukur (100 mL dan 2000 mL), labu erlenmeyer (100 mL), Oven, corong, panci, termometer, pipet Mohr 10 mL, kompor, bulb, sudip, kertas saring (Whatman no. 42), aluminium foil, ayakan (20, 40, 60, 100 mesh), penangas air. Bahan baku yang digunakan yaitu tepung iles-iles dengan pengayakan 40 mesh, enzim α -amilase, larutan etanol 95 %, dan aquades.

Metode

Preparasi sampel (Modifikasi Wardhani *et al.* 2017)

Tepung iles-iles yang dihasilkan dari metode mekanisme kering diayak dengan tingkat pengayakan 20, 40, 60, 100 mesh. Tepung yang tertahan pada ayakan 40 mesh digunakan sebagai sampel. Ukuran 40 mesh diharapkan mengurangi jumlah kalsium oksalat dalam porang yang terlalukan melalui penyaringan 40 mesh. Sampel tersebut diambil 100 g dan dicampurkan ke dalam 3L air dengan suhu 80 °C serta ditambahkan enzim α -amilase dengan konsentrasi (% v/w) yaitu 2.5 %, diaduk hingga

homogen. Proses ini dimaksudkan agar α -amilase dalam bentuk liquid dapat bereaksi dengan maksimal pada tepung yang dibuburkan. Kemudian diinkubasi selama 2, 4, dan 6 jam sambil diagitasi 200rpm. Selanjutnya sampel direndam dengan etanol 95%, disaring, dan dioven selama \pm 6 jam pada suhu 65 °C. Sampel yang telah mengering ditepungkan dengan *dry blender* 30000 rpm.

Penentuan Kadar Glukomanan (modifikasi metode Khanna & Tester (2006))

Tepung sebanyak 1 g selanjutnya ditambahkan 90 mL air lalu *dishacker* dengan suhu 45 °C selama 2 jam. Disentrifugasi 2500 rpm selama 60 menit, filtrat disaring dan ditambahkan alkohol untuk pencucian secukupnya, kemudian disaring kembali dengan menggunakan kertas saring yang telah diketahui beratnya, dikeringkan dengan oven pada suhu 105 °C selama 60 menit. Kertas saring yang telah kering ditimbang untuk mengetahui bobot endapan. Tepung dianalisis kadar glukomanan dengan mengurangi bobot kertas saring kering dan bobot awal kertas saring. Dilakukan pengulangan prosedur untuk beda konsentrasi yaitu 4.5%, 6.5%, 8.5% α -amilase.

Pengukuran derajat putih (Hu *et al.* 2015)

Tepung glukomanan beda waktu dan konsentrasi diukur dengan menggunakan alat chromameter untuk mengetahui tingkat keputihan tepung. Sampel dimasukkan ke dalam cawan petri berukuran kecil hingga penuh, selanjutnya dianalisis dengan alat chromameter pada tiga titik yang berbeda. Data yang dihasilkan lalu dihitung dengan menggunakan rumus:

$$W = 100 - ((100-L)^2 + ((a^2) + (b^2)))^{0.5}$$

Keterangan:

W = Tingkat putih diasumsikan nilai 100 adalah yang paling sempurna

L = nilai yang menunjukkan kecerahan

a = nilai yang menunjukkan warna merah bila bertanda (+) dan hijau bila (-)

b = nilai yang menunjukkan warna kuning bila bertanda (+) dan biru bila (-)

Tabel 1. Analisis variansi (ANOVA) kadar glukomanan

Sumber Keragaman	Db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F	P
Waktu	2	461.780	230.89	25.46*	0.00
Konsentrasi	3	1465.86	488.62	53.89*	0.00
Waktu*Konsentrasi	6	1439.67	239.95	26.46*	0.00
Error	24	217.620	9.07		
Total	35	3584.93			

Keterangan: berpengaruh nyata terhadap uji statistik pada taraf $\alpha = 5\%$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar glukomanan dengan perlakuan 2.5 %, 4.5%, 6.5%, dan 8.5 % α -amilase terlihat pada Gambar 1. Perlakuan terbaik didapatkan dengan konsentrasi enzim α -amilase 2.5% dengan waktu 2 jam menghasilkan kadar glukomanan paling tinggi dibandingkan dengan kadar glukomanan perlakuan lainnya. Interaksi antara waktu dan konsentrasi serta perlakuan waktu (2, 4, dan 6 jam) dan konsentrasi (2.5, 4.5, 6.5, dan 8.5 %) berdasarkan hasil analisis variansi (ANOVA) menunjukkan pengaruh nyata terhadap kadar glukomanan (Tabel 1). Pengaruh tersebut disebabkan oleh α -amilase dalam mereduksi pati dengan pemotongan secara acak yakni pada ikatan α -1,4 glikosidik (Whitehurst & Van Oort 2010), telah berada pada titik waktu optimal dalam menghidrolisis pati umbi *iles-iles*.

Tabel 2 Tingkat derajat keputihan terhadap waktu dan kadar α -amilase

Waktu	Derajat Putih Rerata			
	2.50%	4.50%	6.50%	8.50%
2 jam	98.6027	98.6045	98.5444	98.5529
4 jam	98.5934	98.6113	98.5427	98.5458
6 jam	98.588	98.6135	98.5564	98.5452

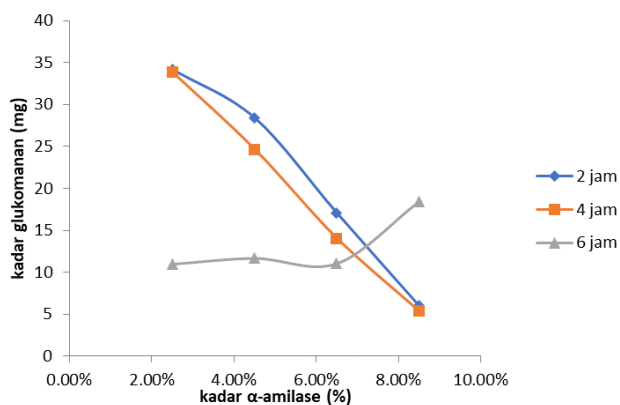
Enzim α -amilase dalam tepung *iles-iles* membantu mengikis pati yang menyelimuti sel manan. Pengikisan pati tersebut selanjutnya

diekstrak dengan menggunakan etanol 95% maka akan didapatkan kadar glukomanan yang tinggi. Rendahnya kadar glukomanan yang didapatkan disebabkan masih adanya pati pada sel manan sehingga endapan atau ekstraksi yang terbentuk saat diekstraksi secara kimiawi dengan menggunakan etanol akan terbentuk lebih kecil dari yang seharusnya atau tepung glukomanan yang didapatkan mengandung komponen lain. Komponen tersebut diduga sebagai poliosa dekstrin. Pada tanaman poliglukosa dapat berbentuk seperti pati atau selulosa dengan memiliki ikatan α dan β -glikosidik (Stern & Jedrzejcas 2008) dan tidak menutup kemungkinan ikut terekstrak dan mengendap karena memiliki sifat yang sama terendap oleh etanol. Hasil glukomanan dengan menggunakan enzim sejauh ini dilaporkan oleh Wardhani *et al.* 2019 bahwa melalui prediksi dengan pendekatan model statistik diketahui glukomanan yang dihasilkan 81.59 % glukomanan.

Tabel 3. Analisis variansi (ANOVA) derajat putih tepung glukomanan

Sumber Keragaman	Db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F	P
Waktu	2	0.00005	0.00002	0.75	0.485
Konsentrasi	3	0.02760	0.00920	243.19*	0.000
Waktu*Konsentrasi	6	0.00084	0.00014	3.74*	0.009
Error	24	0.00090	0.00003		
Total	35	0.02942			

Keterangan: Berpengaruh nyata terhadap uji statistik pada taraf $\alpha = 5\%$



Gambar 1 Hubungan kadar glukomanan rerata terhadap kadar α -amilase dan waktu.

Indikator pengukuran selanjutnya adalah derajat keputihan. Derajat keputihan diuji dengan tujuan untuk memenuhi standar komersialisasi tepung glukomanan. Berdasarkan Tabel 2 tingkat derajat keputihan tepung tinggi pada semua perlakuan kadar enzim α -amilase. Dapat diasumsikan bahwa tepung glukomanan yang terdeteksi dalam cromameter adalah pati karena dalam analisis glukomanan, pati tidak terpisah sempurna. Selain itu, perbandingan konsentrasi α -amilase ini melebihi dari derajat putih glukomanan konjak komersial dengan derajat putih 60.38% (Wu *et al.* 2006). Ditambah lagi dari data ANOVA diketahui bahwa waktu tidak berpengaruh nyata terhadap tingkat keputihan tepung glukomanan, sedangkan konsentrasi dan interaksi antara waktu-konsentrasi berpengaruh nyata dengan derajat putih (Tabel 3). Waktu merupakan suatu faktor yang diamati dalam perlakuan tepung ileles-iles. Data yang didapatkan dari hasil pengukuran dengan menggunakan chromameter tidak terlalu memperlihatkan perbedaan yang signifikan pada masing-masing perlakuan. Hal ini juga sejalan dengan laporan Impaprasert *et al.* 2013, yang menyatakan bahwa tingkat keputihan tidak memiliki pengaruh yang nyata terhadap perlakuan yang dilakukan.

KESIMPULAN

Hasil pengolahan tepung ileles-iles dengan perlakuan terbaik didapatkan dengan konsentrasi enzim α -amilase 2.5% dengan waktu 2 jam menghasilkan kadar glukomanan tertinggi dibandingkan dengan kadar glukomanan perlakuan lainnya. Berdasarkan hasil analisis variansi (ANOVA) memperlihatkan interaksi antara waktu dan konsentrasi serta perlakuan waktu (2, 4, dan 6 jam) dan konsentrasi (2.5, 4.5, 6.5, dan 8.5 %) berpengaruh nyata terhadap kadar glukomanan. Tingkat keputihan tepung pun tidak berpengaruh nyata dengan perlakuan waktu sedangkan konsentrasi dan interaksi waktu-konsentrasi berpengaruh nyata. Hasil yang didapatkan tidak signifikan dengan tingkat

keputihan tepung glukomanan komersial, dalam prosedur termodifikasi dari Prosky *et al* (1964); Khanna & Tester (2006).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian (BB Pascapanen) yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Dave V, McCarthy SP. 1997. Review of konjac glucomannan. *Journal of Environmental Polymer Degradation*. 5 (4): 237 -241.
- Devaraj RD, Reddy CK, Xu B. 2019. Health-promoting effects of konjac glucomannan and its practical applications: A critical review. *Int J Biol Macromol* 126: 273 -281. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.203.
- Gomez B, Miguez B, Yanez R, Alonso JL. 2017. Manufacture and properties of glucomannans and glucomannooligosaccharides derived from konjac and other sources. *J Agri Food Chem*. 65 (10): 2019 – 2031.
- Gumbira SE, Rahayu DL. 2009. Overview Budidaya dan Produksi Umbi Tanaman Konjac Di Indonesia. Departemen Industri Pertanian, FATETA IPB, Bogor.
- Hu Y, Liu W, Yuan C, Morioka K, Chen S, Liu D, *et al*. 2015. Enhancement of the gelation properties of hairtail (*Trichiurus haumela*) muscle protein with curdlan and transglutaminase. *Food Chemistry* 176: 115–122.
- Impaprasert R, Srzednicki G, Borompichaichartkul C, Zhao J, Yu L. 2013. Improving production of purified konjac glucomannan from *Amorphophallus muelleri* by multistage drying. *Acta Hort*. 1011: 155 – 162.
- Kasno A. 2008. Iles-iles Umbi-umbian Potensial sebagai Tabungan Tahunan. *Bul. Palawija* 15: 15-20.
- Khanna S, Tester RF. 2006. Influenced of purified konjac glucomannan on the gelatinisation and retrogradation properties of maize and potato starches. *Food Hydrocolloids* 20: 567-576.
- Mulyono E, *et al*. 2009. Optimasi teknologi produksi tepung manan dari umbi iles-iles (*A. oncophyllus*). [Laporan Akhir Tahun] Balai Besar Pascapanen. Bogor.
- Stern R, Jedrzejak MJ. 2008. Carbohydrate polymers at the center of life's origins: The importance of molecular processivity. *Chem Rev* 108 (12): 5061 – 5085.
- Tester RF, Al-Ghazzewi FH. 2016. Beneficial health characteristics of native and hydrolysed konjac (*amorphophallus konjac*) glucomannan. *J Sci Food Agri*. 96 (10): 3283 – 3291.
- Wardhani DH, Aryanti N, Ramdani DA, Lutfiati A. 2017. Swelling capacity of glucomannan from *Amorphophallus oncophyllus* purified with enzymatic hydrolysis. *Adv. Sci. Lett*. 23: 5623 – 5625.
- Wardhani DH, Vazquez JA, Ramdani DA, Lutfiati A, Aryanti N, Cahyono H. 2019. Enzymatic purification of glucomannan from *amorphophallus oncophyllus* using α -amylase. *Bioscience Journal* 35 (1): 277 – 288.
- Whitehurst RJ, Van Oort M. 2010. *Enzymes in Food Technology 2nd Edition*. West Sussex (UK): Blackwell Publishing.

- Wu J, Aluko RE, Corke H. 2006. Partial least-squares regression study of the effects of wheat flour composition, protein and starch quality characteristics on oil content of steamed-and-fried instant noodles. *J Cereal Sci.*44 (2): 117-126.
- Zhang C, Chen JD, Yang FQ. 2014. Konjac glucomannan, a promising polysaccharide for OCDDS. *Carbohydrate Polymers.* 104: 175 -181.
- Zheng Y, Li Y, Zhang Y, Zhang R, Zhang Y, Zhao S. 2015. Effects of limited enzymatic hydrolysis, pH, ionic strength and temperature on physicochemical and functional properties of palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) kernel expeller protein. *J Food Sci Technol* 52: 6940 – 6952.