



## **Pengaruh Enzim Amilase *Brevibacterium sp* dan Glukoamilase Terhadap Kemampuan Penjerapan Minyak Pada Pati Singkong**

*Effect of Brevibacterium sp and Glucoamylase Enzyme on the Oil Adsorption Degree of Cassava Starch*

**Fina Uzwanita<sup>1)</sup>, Putri Ajeng Syahru Rahma<sup>1)</sup>, Dwi Ajas Pramasari<sup>2)\*</sup>, Riska Surya Ningrum<sup>2)</sup>, Dewi Sondari<sup>2)</sup>**

<sup>1)</sup> Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Ilmu Pangan Halal, Universitas Djuanda, Jalan Tol Ciawi 01, Kota Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16720

<sup>2)</sup> Pusat Riset Biomassa dan Bioproduk, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Kawasan Cibinong Science Center, Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong, Jawa Barat, Indonesia 16911  
email: [dwi.ajas.pramasari@brin.go.id](mailto:dwi.ajas.pramasari@brin.go.id)

Diserahkan [21 Juni 2022]; Diterima [26 Desember 2022]; Dipublikasi [14 April 2023]

### **ABSTRACT**

*Improper oil waste management contributes to environmental degradation, notably water pollution. Because conventional methods for treating oil pollutants are costly and have limited removal efficacy, the use of natural adsorbents is recommended due to their dependability and affordability. The purpose of this study was to see how modified cassava starch affected oil adsorption using two types of enzymes: Brevibacterium sp amylase enzymes derived from Indonesian marine bacteria and commercial amylase enzyme (Dextrozyme® GA). Oil-adsorption degree is applied to several types of oil, including palm oil and olive oil. The findings revealed that the properties of modified starch differed from those of native starch in both physical and chemical terms. The modified starch produced by hydrolysis of the glucoamylase enzyme (Dextrozyme® GA) had a yield of 80.16 %, a reducing sugar content of 0.20 g/L at 24 h, and a particle size of 377 nm, which is lower than the starch hydrolyzed by Brevibacterium sp. In contrast with the degree of oil adsorption in the glucoamylase enzyme (Dextrozyme® GA) higher than Brevibacterium sp. Statistical analysis showed that the oil adsorption degree is affected by the type of enzyme, therefore, the modified starch from Brevibacterium sp still needs improvement to be competitive for oil adsorption compared with the modified starch from the glucoamylase enzyme (Dextrozyme® GA).*

**Keywords:** *Brevibacterium sp; glucoamylase; modified starch; oil-adsorbing*

### **ABSTRAK**

Pengelolaan limbah minyak yang tidak sesuai berakibat terhadap degradasi lingkungan, terutama pencemaran air. Hal ini dikarenakan, metode konvensional yang digunakan untuk menangani polutan minyak berbiaya mahal dan memiliki kemampuan yang terbatas, pemanfaatan bahan alami yang berkelanjutan menawarkan alternatif penjerapan minyak yang tidak beracun dan terbarukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pati singkong termodifikasi terhadap kemampuan penjerapan minyak menggunakan dua jenis enzim yaitu enzim *Brevibacterium sp* amilase yang berasal dari bakteri laut Indonesia, dan enzim amilase komersial (Dextrozyme® GA). Tingkat penjerapan minyak diaplikasikan pada beberapa jenis minyak yaitu minyak sawit dan minyak zaitun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sifat pati termodifikasi berbeda dari pati asli baik secara fisik maupun kimia. Pati termodifikasi hasil hidrolisis enzim glukoamilase (Dextrozyme® GA) memiliki rendemen 80,16 % dan kadar gula pereduksi 0,20 g/L pada 24 jam dan ukuran partikel 377 nm, lebih rendah dibandingkan pati hasil hidrolisis *Brevibacterium sp*. Sebaliknya tingkat penjerapan minyak pada enzim glukoamilase (Dextrozyme® GA) lebih tinggi dibandingkan *Brevibacterium sp*. Analisis statistik menunjukkan bahwa tingkat penjerapan minyak dipengaruhi oleh jenis enzim, oleh karena itu pati termodifikasi dari *Brevibacterium sp* masih perlu ditingkatkan untuk dapat bersaing dalam kemampuan penjerapan minyak dibandingkan dengan pati termodifikasi dari enzim glukoamilase (Dextrozyme® GA).

**Kata Kunci:** *Brevibacterium sp; glukoamilase; pati termodifikasi; penjerapan minyak*

**Saran sitasi:** Uzwatania, F., Rahma, P. A. S., Pramasari, D. A., Ningrum, R. S., & Sondari, D. 2022. Pengaruh Enzim Amilase *Brevibacterium* sp dan Glukoamilase Terhadap Kemampuan Penjerapan Minyak Pada Pati Singkong. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 15(2), 109-120. <https://doi.org/10.20961/jthp.v15i2.62318>

## PENDAHULUAN

Pencemaran air dapat mengakibatkan kerusakan lingkungan yang akan mempengaruhi seluruh makhluk hidup yang ada didalamnya. Minyak dan lemak memiliki sifat beracun bagi beberapa organisme akuatik. Lapisan minyak juga mencegah transfer oksigen dan mengakibatkan rendahnya kadar oksigen terlarut di dalam air. Salah satu untuk mengatasi krisis lingkungan terutama pencemaran air dari tumpahan minyak dan limbah industri yaitu dengan menggunakan penjerapan minyak (Hassan dan Puteh, 2007; Jasni et al., 2020). Bahan penjerapan minyak alami yang umumnya menggunakan kapas, ampas tebu, sekam padi, kapuk, dan limbah kayu (Jahi et al., 2015).

Pati merupakan salah satu biopolimer potensial yang dapat digunakan untuk penjerapan minyak alami dengan berbiaya rendah. Kelemahan dalam menggunakan pati alami yaitu luas permukaan dan volume pori yang terbatas, sehingga diperlukan modifikasi pati untuk menghasilkan granula pati dengan permukaan yang lebih besar dan menjadi lebih berpori untuk dijadikan penjerapan minyak alami. Salah satu modifikasi yang dapat dilakukan yaitu dengan menghidrolisis pati alami pada suhu di bawah suhu gelatinasi menggunakan enzim sehingga dapat menurunkan biaya produksinya (Majzobi et al., 2015; Pramasari et al., 2020). Robertson et al., (2006) menyatakan bahwa hidrolisis enzimatik pada pati alami dengan tanpa pemanasan yang tinggi merupakan pemanfaatan yang efektif dari suatu biomassa sehingga dapat menghemat energi dan mengurangi biaya keseluruhan proses modifikasi pati.

Enzim amilase merupakan enzim yang umum digunakan dalam modifikasi pati, dengan cara kerja yang mengkatalisis pemecahan glikosida ikatan pati menjadi gula

sederhana. Enzim ini dapat dihasilkan dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme (Hashim, 2019),  $\alpha$ -amilase dan glukoamilase merupakan jenis enzim amilase yang terbukti memiliki kemampuan yang baik dalam menghidrolisis pati (Wu et al., 2011). Penggunaan mikroorganisme dalam menghasilkan enzim amilase dianggap lebih prospektif karena mudah tumbuh, cepat, menghasilkan produk, kondisi lingkungan dapat dikendalikan, menguntungkan secara ekonomis dan memiliki siklus hidup pendek sehingga produktivitasnya dapat ditingkatkan. Namun, dipasaran komersial mikroorganisme yang banyak digunakan berasal dari tanah, mikroorganisme yang berasal dari laut belum banyak dimanfaatkan padahal karakteristik mikroorganisme laut sangat unik yaitu tahan terhadap kandungan garam yang sangat tinggi (Rahmani et al., 2011).

*Brevibacterium* sp merupakan mikroorganisme laut yang dapat menghasilkan  $\alpha$ -amilase yang berasal dari perairan Indonesia (Purnawan et al., 2015; Rahmani et al., 2011). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Pramasari et al. (2020) menunjukkan pati yang dihidrolisis oleh *Brevibacterium* sp memiliki kemampuan yang setara dengan pati hasil modifikasi  $\alpha$ -amilase komersial sehingga berpotensi untuk dijadikan agen penjerapan minyak.. Perbedaan mendasar penelitian ini dibandingkan penelitian sebelumnya yaitu perbedaan penggunaan jenis enzim, aktivitas enzim serta kondisi pada proses hidrolisis enzimatik. Pada penelitian ini digunakan dua jenis enzim amilase yang berbeda yaitu enzim amilase *Brevibacterium* sp yang merupakan jenis enzim alfa amilase dan Dextrozyme® GA merupakan gabungan dari enzim amiloglukosidase dan pullulanase, sehingga tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh kedua jenis enzim tersebut terhadap karakteristik pati modifikasi yang dihasilkan sebagai bahan penjerapan minyak alami dan karakteristik lainnya dari modifikasi yang dihasilkan.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah pati singkong komersial dengan merk dagang Tapioka Cap Pak Tani. Jenis enzim amilase yang digunakan yaitu amilase yang berasal dari *Brevibacterium* sp. dari Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, BRIN dan enzim amilase komersial Dextrozyme® GA (Novozyme). Bahan kimia yang digunakan akuades, 2 M Asam klorida (Merck), larutan 20 mM buffer fosfat pH 6,9 yang terbuat dari di-natrium hidrogen fosfat (Merck), natrium dihidrogen fosfat monohidrat (Merck) dan natrium klorida (Merck), larutan buffer sitrat, asam 2,3-dinitrosalisilat – DNS (Sigma Aldrich), etanol (Merck) 95%, etanol 50-70% teknis 1N Natrium Hidroksida (Merck), 1N Asam asetat (Merck) dan larutan iod. Jenis minyak yang digunakan minyak sawit (Sunco) dan minyak zaitun (Casa di Oliva).

### Alat

Peralatan yang digunakan dalam hidrolisis pati yaitu *incubator shaker* (Wise Cube), tabung sentrifuge 50 mL, pipet ukur dan bulb filler. Peralatan untuk karakterisasi yaitu oven, pH meter, vortex dan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800.

### Tahapan Penelitian

#### Uji Aktivitas Enzim Amilase

Sebelum digunakan dua jenis enzim amilase pada penelitian ini, dilakukan pengujian aktivitas enzim amilase dengan menambahkan 1 mL enzim (amilase dari *Brevibacterium* sp. atau enzim amilase komersial Dextrozyme® GA) ke dalam 1 mL larutan pati, kemudian dinkubasi selama 3 menit pada suhu optimum 30°C. Penambahan 2 ml DNS ke dalam larutan enzim pati terserbut dan dipanaskan sampai mendidih, kemudian didinginkan dengan cepat pada air mengalir dan ditambahkan 20 mL akuades. Aktivitas enzim diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm sebagai kurva

standar menggunakan maltosa dengan beberapa konsentrasi (AOAC, 1995).

### Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisis enzimatis pada penelitian ini merupakan modifikasi hidrolisis enzimatis yang dikembangkan oleh Kim *et al.*, (2008), Uthumporn *et al.*, (2010) dan Pramasari *et al.*, (2020). Sebanyak 1 g (berat kering) pati singkong ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge 50 mL. Kemudian ditambahkan enzim amilase (*Brevibacterium* sp atau Dextrozyme® GA) dengan rasio aktivitas enzim dan substrat 0,02 U/g, dengan menambahkan larutan 20 mM buffer fosfat untuk mencapai rasio tersebut.

Larutan yang berisi pati singkong dan enzim amilase diinkubasi menggunakan *incubator shaker* (Wise Cube) dengan lama waktu proses 24 jam, suhu 37°C dengan kecepatan 150 rpm. Setelah proses inkubasi selesai, terlebih dahulu pH sampel diukur, kemudian hasil hidrolisis enzimatis diinaktivasi menggunakan HCl 2 M sebanyak 2 mL agar pH mencapai 1,5-1,6. Larutan pati sampel dilakukan pencucian dengan akuades sampai pH 5 menggunakan metode sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Residu pati yang telah dicuci dan pH 5 dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam.

### Analisis Kadar Air

Analisis kadar air yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan alat Moisture Analyzers (Kern MLS-D). Sebanyak 0,1 g sampel (berat kering) ditimbang pada plat aluminium yang telah diketahui bobot kosongnya, kemudian dikeringkan dalam alat pada suhu 105°C selama 2 menit hingga diperoleh nilai kadar air yang akan ditampilkan secara otomatis pada alat tersebut (Kern dan Sohn GmbH, 2013).

### Analisis Kadar Amilosa dan Kadar Amilopektin

Sebanyak 100 mg sampel pati ditambahkan ke dalam 1 mL etanol 95% dan 9 mL larutan NaOH 1 N dan kemudian dipanaskan selama 30 menit pada suhu 80-

90°C dan ditambahkan akuades sampai 100 mL dan dikocok. Setelah itu, diambil 1 mL sampel ditambahkan 1 mL CH<sub>3</sub>COOH 1 N, 2 mL larutan iod, dan akuades sampai dengan 50 mL. Selanjutnya, didiamkan selama 20 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1800 pada panjang gelombang ( $\lambda=612$  nm). Kadar amilopektin dihitung sebagai pengurangan dari persentase kadar amilosa (IRRI, 1978).

### Analisis Gula Pereduksi

Analisis gula pereduksi dilakukan dengan mengambil 0,5 mL sampel pati ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL buffer sitrat dan 3 mL reagen DNS pada tiap tabung reaksi menggunakan mikro pipet. Tabung reaksi dipanaskan di dalam *water bath* pada suhu 100°C selama 5 menit agar terjadi reaksi antara glukosa dengan DNS. Sampel dilakukan pada waktu hidrolisis enzim 2, 4, 6 dan 24 jam. Absorbansi tiap larutan diukur dengan panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh disesuaikan pada kurva standar glukosa yang digunakan (Miller, 1959).

### Analisis Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

Analisis ukuran partikel pada pati termodifikasi enzim dilakukan menggunakan Particle Size Analyzer Anton Paar (Litesizer 500). Pati termodifikasi didispersikan dalam aquades lalu dihomogenkan menggunakan sonikator selama 5 menit. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan kemudian dimasukkan ke dalam holder pada alat PSA. Hasil yang diperoleh berupa intensitas untuk mengetahui ukuran partikel pati termodifikasi dan indeks polidispersitas merupakan lebar *Gaussian bell* yang mencerminkan distribusi ukuran partikel dalam sampel (Condés *et al.*, 2015).

### Analisis Kemampuan Penjerapan (Adsorpsi) Minyak

Analisis kemampuan penjerapan (adsorpsi) minyak dengan menggunakan minyak sawit, dan minyak zaitun sebanyak

1,25 mL ditambahkan dengan 0,25 g pati kering hasil modifikasi hidrolisis enzimatis pada wadah berukuran 2 mL. Kemudian larutan tersebut divortex selama 5 menit dan didiamkan selama 20 menit. Pemisahan dilakukan dengan metode sentrifugasi dengan kecepatan 1.000 rpm selama 5 menit untuk memisahkan minyak dan pati. Pati tersebut kemudian ditimbang, derajat kemampuan penjerapan (adsorpsi) minyak merupakan persentase berat minyak yang terjerap pada pati dikarenakan terbentuknya banyak pori pada pati tersebut (Majzooobi *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2011).

$$\text{Daya Jerap Minyak} = \frac{(WA-W)}{W} \times 100\%$$

W = Berat pati kering

WA = Berat pati dan minyak yang terjerap

### Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu perlakuan enzim amilase (*Brevibacterium* sp dan Dextrozyme ® GA) terhadap respon perlakuan yaitu kadar air, rendemen pati, kadar amilosa, kadar amilopektin dan kemampuan penjerapan minyak. Kemudian, dilakukan analisa varians (ANOVA) satu arah dengan alat bantu uji statistika yaitu Statistical Tool for Agricultural Research (STAR) software version 2.0.1 International Rice Research Institute. Apabila terdapat perbedaan nyata, dilakukan uji lanjut (post-hoc) Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada selang kepercayaan 5%. Data hasil pengamatan lainnya dianalisa secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada proses hidrolisis enzimatis dapat menghasilkan pati termodifikasi baik menggunakan enzim amilase maupun glukamilase. Kedua enzim tersebut terbukti memiliki kemampuan yang baik dalam menghidrolisis pati (Wu *et al.*, 2011). Pengujian aktivitas enzim yang dilakukan pada penelitian ini menghasilkan aktivitas enzim yang digunakan yaitu

amilase dari *Brevibacterium* sp.  $4 \times 10^{-3}$  U/mL, sedangkan enzim amilase komersial Dextrozyme ® GA (Novoenzyme) 0,48 U/mL. Hal ini menunjukkan bahwa enzim Dextrozyme ® GA memiliki aktivitas enzim yang lebih tinggi dikarenakan Dextrozyme ® GA merupakan gabungan dari enzim amiloglukosidase dan pullulanase, sedangkan enzim amilase *Brevibacterium* sp merupakan jenis enzim alfa amilase yang merupakan endoenzim yang memutuskan ikatan  $\alpha$ -1,4 secara acak pada molekul amilosa dan amilopektin (Winarno, 2010). Penggunaan enzim amilase *Brevibacterium* sp telah berhasil dilakukan sebelumnya menggunakan pati Taka dengan aktivitas enzim *Brevibacterium* sp 1,78 U/ml untuk menghasilkan 34,45 gram bubuk maltooligosakarida (Rahmani et al., 2019). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Rahmani et al., (2015) menggunakan pati singkong dan enzim *Brevibacterium* sp dengan aktivitas 2,3 U/mL menghasilkan maltooligosakarida dengan konsentrasi gula pereduksi 13,36 ppm. Kedua aktivitas enzim *Brevibacterium* sp pada penelitian terdahulu lebih tinggi dibandingkan yang digunakan dalam penelitian ini. Hal ini dimungkinkan karena waktu penyimpanan yang lama pada enzim *Brevibacterium* sp yang digunakan pada penelitian ini, sehingga mempengaruhi aktivitas enzim dan volume enzim yang ditambahkan pada saat hidrolisis enzimatis ditahapan selanjutnya.

### **Karakteristik Pati Singkong Termodifikasi**

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar air pada pati singkong termodifikasi enzim

tidak berbeda signifikan, sedangkan kadar air keduanya lebih rendah dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Pramasari et al., (2020) yang menggunakan enzim amilase *Brevibacterium* sp dan amilase Lyquoenzyme. Perbedaan suhu pengeringan (pada penelitian ini  $60^{\circ}\text{C}$ ) setelah proses hidrolisis enzimatis yang kemungkinan menyebabkan nilai kadar air pada produk pati penelitian ini di bawah 5%. Bahanawan et al., (2019) menyatakan bahwa suatu proses pengeringan pada suatu bahan akan mempengaruhi penurunan kadar airnya. Hal ini akibat ikatan-ikatan molekul air (unsur oksigen dan hidrogen) yang terpecah dengan adanya panas ketika pengeringan, sehingga hilangnya kandungan air pada bahan (Ega dan Lopulalan, 2015). Effendi et al., (2016) menjelaskan bahwa kemampuan menyerap atau mengikat air pada amilosa berkaitan dengan kemampuan pembentukan ikatan hidrogen yang lebih besar pada amilosa dibandingkan dengan amilopektin. Jika dihubungkan antara kadar air dan kadar amilosa terlihat bahwa hubungan keduanya saling berkebalikan (Tabel 1), dimana pati hasil *Brevibacterium* sp memiliki kadar air yang lebih rendah, namun kadar amilosa yang terkandung lebih tinggi dibandingkan dengan pati hasil Dextrozyme ® GA. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Harianies et al., (2009) yang menjelaskan kadar amilosa yang tinggi pada pati cenderung mengakibatkan interaksi yang kuat antar rantai polimer atau membentuk ikatan silang sehingga membuat sifat hidrofilik pati menurun dan terhalangnya molekul air untuk masuk karena terbentuknya jaringan yang lebih teratur.

**Tabel 1.** Karakteristik Pati Singkong Termodifikasi

| Jenis Enzim              | Parameter (%)     |                    |                    |                   |
|--------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
|                          | Kadar Air         | Rendemen Pati      | Kadar Amilosa      | Kadar Amilopektin |
| <i>Brevibacterium</i> sp | $4,08 \pm 1,26^a$ | $90,19 \pm 0,48^a$ | $25,19 \pm 0,04^a$ | $74,81^b$         |
| Dextrozyme ® GA          | $4,31 \pm 0,22^a$ | $80,16 \pm 0,45^b$ | $24,35 \pm 0,21^b$ | $75,65^a$         |

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

dari struktur rantai lurus amilosa. Hal ini yang mengakibatkan kandungan kadar air pada pati singkong termodifikasi *Brevibacterium* sp lebih rendah dibandingkan dengan pati hasil Dextrozyme® GA. Selain itu, amilosa merupakan komponen pati yang larut air sedangkan amilopektin tidak larut dalam air tetapi larut dalam N-butanol (Sondari et al., 2020)

Rendemen pati yang dihasilkan menunjukkan bahwa pati yang terhidrolisis enzim *Brevibacterium* sp memiliki nilai lebih tinggi dan berbeda signifikan dibandingkan dengan enzim Dextrozyme® GA (**Tabel 1**). Rendemen pada pati perlakuan di penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Pramasari *et al.*, (2020), meskipun menggunakan enzim *Brevibacterium* sp namun rasio aktivitas enzim dan substrat yang digunakan pada penelitian ini jauh lebih rendah yaitu 0,02 U/g. Penggunaan enzim yang lebih sedikit, rendemen pati yang dihasilkan lebih tinggi. Apabila dibandingkan dengan enzim komersial Dextrozyme® GA, rendemen yang dihasilkan enzim *Brevibacterium* sp lebih tinggi dibandingkan enzim komersial Dextrozyme. Enzim *Brevibacterium* sp merupakan enzim amilase yang berasal dari mikroorganisme laut yang dapat memecah pati menjadi glukosa, dekstrin dan ikatan lainnya. Hasil ini berbeda dengan yang dilakukan oleh Le Corre (2012) yang menunjukkan rendemen dari enzim  $\alpha$ -amilase lebih rendah dibandingkan dengan enzim glukoamilase. Hal ini dimungkinkan karena cara kerja enzim Dextrozyme® GA merupakan enzim campuran antara amiloglukosidase dan pullulanase sehingga lebih efektif ikatan  $\alpha$ -1,6 glikosidik dengan cepat dibandingkan enzim  $\alpha$ -amilase saja, sehingga hasil konversi pati menjadi glukosa lebih tinggi dan membuat rendemen pati menjadi lebih rendah. Penelitian yang dilakukan oleh Yunianta *et al.*, (2010) menemukan bahwa penggunaan enzim alfa amilase dan pada proses likuifikasi dan dilanjutkan proses sakarifikasi menggunakan kombinasi enzim glukoamilase dan pullulanase (dextrozyme) pada pati garut menghasilkan sirup glukosa dengan nilai dekstrosa ekivalen (DE) sebesar 92,14.

Selain itu, konsentrasi enzim dextrozyme dipengaruhi secara nyata terhadap afinitas enzim dextrozyme terhadap substrat amilosa dan amilopektin. Dimana efektifitas dari enzim dextrozyme bersinergi dengan proses sebelumnya (likuifikasi) menggunakan enzim alfa amilase yang mengalami proses hidrolisis dari bagian dalam rantai molekul amilosa terutama amilopektin.

Kadar amilosa dan amilopektin dari hidrolisis pati dengan kedua jenis enzim amilase yang digunakan tidak berbeda signifikan (**Tabel 1**), namun dari analisa statistika memperlihatkan bahwa nilai tersebut berbeda nyata dan dapat disimpulkan bahwa kadar amilosa dan amilopektin dipengaruhi secara signifikan oleh enzim yang digunakan pada proses modifikasi pati secara hidrolisis. Kadar amilosa dan amilopektin awal pati singkong yang digunakan pada penelitian ini berturut-turut adalah 24,13% dan 75,87%. Kadar amilosa pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Vamadevan dan Bertoft, (2015) pada kisaran 17-33%. Perbedaan kandungan amilosa yang tidak signifikan antara pati awal dan pati perlakuan enzim sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhai *et al.*, (2022) yang menggunakan pati gandum dimana pada penelitian tersebut menjelaskan bahwa tidak adanya perbedaan signifikan antara kandungan amilosa pada pati awal, kontrol dan pati modifikasi dengan *maltogenic  $\alpha$ -amylase* akibat perlakuan *maltogenic  $\alpha$ -amylase* yang dapat mendegradasi secara simultan antara amilosa dan amilopektin. Secara rasio kandungan antara amilosa dan amilopektin yaitu 1:3, hal ini berarti kandungan amilopektin pada pati singkong ini cukup tinggi dan akan mengakibatkan pati tidak higroskopis atau tidak terlalu menyerap air dan lengket. Selain itu, tingkat pengembangan dan penyerapan air pada pati tergantung pada kandungan amilosa. (Romadona, 2012). Jika dilihat dari kandungan air pada kedua hasil pati modifikasi (**Tabel 1**), terlihat bahwa kandungan air pada *Brevibacterium* sp lebih rendah dibandingkan dengan Dextrozyme® GA, namun kandungan amilosanya lebih tinggi. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Effendi *et al.*, (2016)

dan Kustyawati et al., (2013) yang menyatakan semakin tinggi kadar amilosa akan meningkatkan kandungan air pada pati karena amilosa memiliki sifat polar.

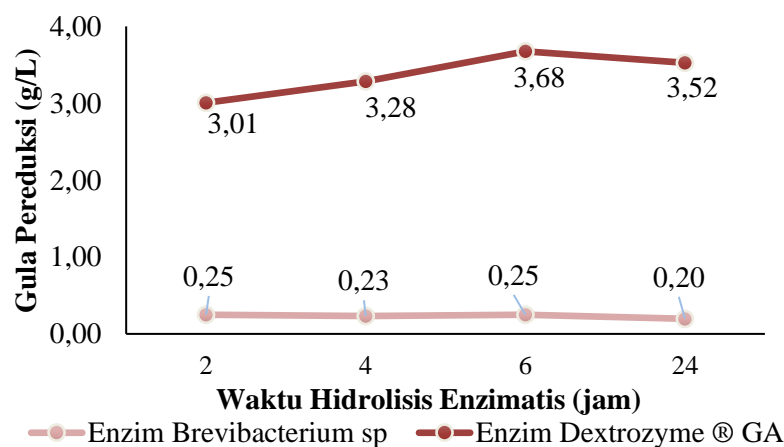
Pada umumnya, pati awal memiliki banyak amilosa yang terdapat pada bagian amorf di cincin pertumbuhan dan amilopektin merupakan bagian utama dari daerah kristalin pada granula pati (Vamadevan dan Bertoft, 2015). Dari persentase yang ditunjukkan pada **Tabel 1** terlihat penggunaan enzim Dextrozyme ® GA menyebabkan penurunan persentase kadar amilopektin, hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa penggunaan enzim pada hidrolisis pati lebih mudah menyerang daerah kristalin (amilopektin), sehingga terjadi peningkatan pada persentase daerah amorf atau kadar amilosa (Zhai et al., 2022).

**Kandungan Gula Pereduksi Pati Singkong Termodifikasi**

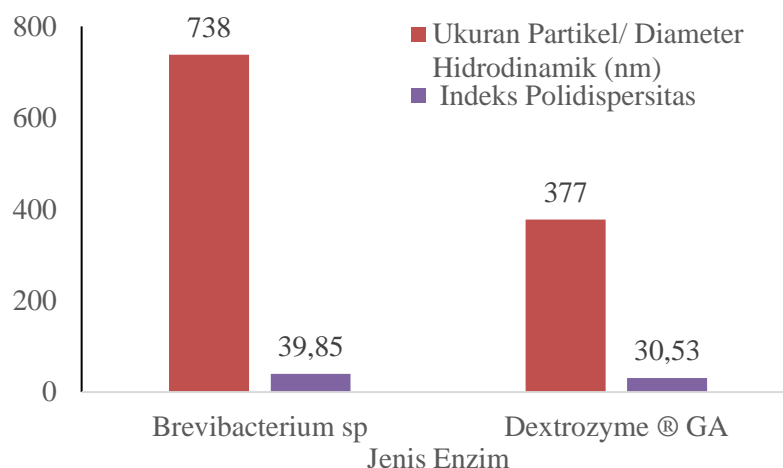
Salah satu parameter untuk mengetahui keefektivitas hidrolisis pati yaitu dengan menganalisa kadar gula pereduksi dimana dalam proses hidrolisis pati berkaitan erat dengan proses pemutusan pati menjadi rantai glukosa dengan ujung pereduksi (*reducing end*) (Faridah, 2011). Selain itu, Parwiyanti et al., (2011) menjelaskan bahwa terputusnya banyak rantai pati akan berakibat banyak gugus OH yang reaktif dan meningkatkan kandungan gula pereduksi yang dihasilkan. **Gambar 1** menunjukkan bahwa nilai gula

pereduksi pati hasil hidrolisis enzim *Brevibacterium* sp cenderung memiliki nilai yang stabil, berbeda dengan pati hasil modifikasi Dextrozyme ® GA yang meningkat semakin lamanya waktu hidrolisis. Walaupun sedikit mengalami penurunan pada waktu 24 jam. Jika dihubungkan dengan rendemen pati pada **Tabel 1**, terlihat bahwa pati yang terhidrolisis enzim *Brevibacterium* sp tidak terlalu banyak, sehingga nilai gula pereduksinya cenderung stabil, hal ini diduga karena tidak banyak terjadi proses pemutusan rantai glukosa. Menurut Faridah, (2011) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi gula pereduksi maka semakin banyak titik percabangan pada ikatan glikosidik  $\alpha$ -1,6 amilopektin yang terhidrolisis. Hal ini yang mengkonfirmasi bahwa hidrolisis enzimatik pada pati dengan Dextrozyme ® GA menyebabkan peningkatan nilai gula pereduksi. **Ukuran Partikel Pati Singkong Termodifikasi dan Indeks Polidispersitas**

Karakteristik diameter hidrodinamik atau distribusi partikel dari pati singkong yang terhidrolisis dua enzim amilase berbeda pada penelitian ini (**Gambar 2**). Diameter hidrodinamik ini adalah ukuran yang tergambar (*apparent size*) bukan ukuran sebenarnya (*actual size*) dari partikel pati, walaupun demikian dapat digunakan untuk menjadi acuan untuk menentukan distribusi partikel suatu bahan (Dai et al., 2018; Le Corre, 2012). Dengan rasio aktivitas enzim



**Gambar 1.** Pengaruh waktu hidrolisis terhadap Gula Pereduksi pada Pati Modifikasi



**Gambar 2.** Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas Pati Modifikasi Enzim

dan substrat yang sama, pati hasil modifikasi hidrolisis enzim amilase *Brevibacterium* sp memiliki ukuran partikel dua kali lebih besar dibandingkan ukuran partikel dari hasil enzim Dextrozyme® GA. Menurut Kim *et al.*, (2015), kadar amilosa pada pati akan mempengaruhi ukuran partikel dari pati tersebut, hal ini juga yang diduga membuat ukuran partikel dari enzim amilase *Brevibacterium* sp lebih besar, karena kandungan amilosanya lebih besar dibandingkan pati yang dihasilkan enzim Dextrozyme® GA (**Tabel 1**). Dilain sisi, ukuran partikel yang dihasilkan pada penelitian ini jauh lebih kecil dibandingkan dengan yang dilakukan Pramasari *et al.*, (2020), pada penelitian ini terutama pati yang dihasilkan oleh enzim Dextrozyme® GA hampir mendekati ukuran nanokristal pati, yaitu 1-100 nm (Silva *et al.*, 2018). Proses modifikasi pati dengan menggunakan enzim menyebabkan granula pati menjadi lebih banyak pori, porous dan meningkatkan luas permukaan dari pati modifikasi tersebut dan membuat pati cenderung memiliki kapasitas penjerapan yang baik sehingga dapat diaplikasikan menjadi adsorben. Secara prinsip kerja enzim alfa amilase menghidrolisis granula pati dari bagian lapisan terluar dan membuat ukuran granula menjadi mengecil dengan terbentuknya sedikit porositas (Lecorre *et al.*, 2012; Pramasari *et al.*, 2020).

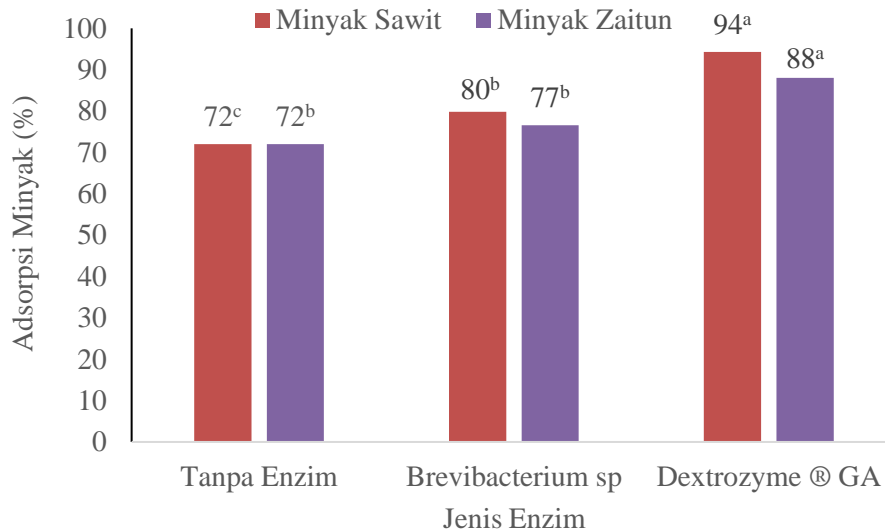
Indeks polidispersitas (**Gambar 2**) yang rendah mengindikasikan bahwa sampel pati

termodifikasi memiliki homogenitas yang tinggi (Chen *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2021). Hidrolisis enzim menggunakan Dextrozyme® GA menghasilkan nilai indeks polidispersitas lebih rendah dibandingkan penggunaan enzim amilase *Brevibacterium* sp, yang diduga akibat adanya dosis dari campuran pullulanase pada enzim Dextrozyme® GA. Chen *et al.*, (2022) menjelaskan bahwa dengan meningkatnya dosis enzim pullulanase akan mengakibatkan pati memiliki homogenitas yang baik dan menghasilkan partikel pati dengan ukuran yang lebih kecil.

### **Kemampuan Penjerapan (Adsorpsi) Minyak Pati Singkong Termodifikasi**

Kemampuan penjerapan minyak dari hasil pati termodifikasi berhubungan erat dengan terbentuknya beberapa pori pada pati yang dinamakan sebagai pati berpori. Dengan adanya beberapa pori ini akan meningkatkan luas permukaan pati dan sebagai penghubung dari enzim untuk masuk lebih mudah ke dalam granula pati (Wu *et al.*, 2011). Gambar 3 menunjukkan bahwa pati tanpa perlakuan enzim atau pati singkong murni memiliki nilai adsorpsi yang paling rendah dibandingkan dengan pati hasil modifikasi enzim yang mengindikasikan bahwa pori pada permukaan pati masih sedikit. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Le Corre, (2012), Lin *et al.*, (2022) dan Pramasari *et al.*, (2020) yang menunjukkan perlakuan modifikasi terhadap pati baik fisik, kimia ataupun enzimatik akan





Keterangan : Rerata yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

**Gambar 3.** Kemampuan Adsorpsi Minyak Pati Modifikasi Enzim

membuat kemampuan penyerapan minyak pada pati akan mengalami peningkatan dibandingkan pati murni.

Adsorpsi pada pati singkong termodifikasi menggunakan enzim *Brevibacterium* sp pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Pramasari *et al.*, (2020), begitu pula hasil enzimatis Dextrozyme® GA dibandingkan dengan Wu *et al.*, (2011). Hal ini diduga karena perbedaan konsentrasi enzim amilase yang digunakan selama proses hidrolisis. Namun, perlu diperhatikan selama proses modifikasi enzim pati yaitu banyaknya enzim yang ditambahkan, jika berlebihan akan membuat pati semakin berpori besar dan pecah sehingga berakibat pada menurunnya kemampuan penyerapan minyak. Secara prinsip penyerapan minyak oleh pati akibat banyaknya pori dan meningkatnya luas permukaan dalam pati yang berperan sebagai jembatan transportasi sehingga membuat minyak terjerap pada rongga heliks dan fasa eksternal pada sistem pati (Lin *et al.*, 2022). Analisa statistika menunjukkan bahwa kemampuan penyerapan minyak dari pati yang dihasilkan Dextrozyme® GA berbeda nyata dengan pati yang berasal dari enzim *Brevibacterium* sp dan pati alami. Namun jenis minyak yang digunakan tidak berbeda secara nyata

dimasing-masing perlakuan, hal ini diduga karena berat jenis antara minyak sawit dan minyak zaitun tidak berbeda secara signifikan.

## KESIMPULAN

Enzim amilase komersial dari Dextrozyme® GA memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan dengan enzim amilase dari *Brevibacterium* sp. Hidrolisis pati singkong menggunakan enzim Dextrozyme® GA menghasilkan gula pereduksi yang lebih tinggi, rendemen pati termodifikasi lebih rendah, karakteristik pati termodifikasi dengan kandungan amilosa lebih rendah, kadar air yang lebih tinggi, ukuran partikel yang lebih besar dan lebih homogen dibandingkan dengan proses hidrolisis menggunakan *Brevibacterium* sp. Secara statistika, rendemen pati, kadar amilosa, kadar amilopektin dan kemampuan adsorpsi minyak yang dipengaruhi oleh perbedaan enzim yang digunakan. Kedua jenis pati termodifikasi yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki kemampuan mengadsorpsi minyak yang lebih rendah dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, tetapi tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih terhadap Laboratorium Bioproduk Terintegrasi (iLaB) Pusat Riset Biomassa dan Bioproduk, Badan Riset dan Inovasi Nasional. Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas bantuan dana penelitian melalui Program INSINAS Tahun Anggaran 2019.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bahanawan, A., Kusumah, S. S., Darmawan, T., Ismadi, Masruchin, N., Sudarmanto, Jayadi, Pramasari, D. A., Triwibowo, D., Kusumaningrum, W. B., Wibowo, E. S., Syamani, F. A., Krishanti, N. P. R. A., Lestari, E., Amin, Y., Sufiandi, S., Syahrir, A., dan Dwianto, W. (2019). Moisture content, color quantification and starch content of oil palm trunk (*Elaeis guineensis* Jacq.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 374(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/374/1/012041>
- Chen, X., Hu, Z., Chen, D., dan Feng, T. (2022). Preparation and physiochemical properties of enzymatically modified octenyl succinate starch. *Journal of Food Science, March*. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16122>
- Condés, M. C., Añón, M. C., Mauri, A. N., dan Dufresne, A. (2015). Amaranth protein films reinforced with maize starch nanocrystals. *Food Hydrocolloids*, 47, 146–157. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.026>
- Dai, L., Li, C., Zhang, J., dan Cheng, F. (2018). Preparation and characterization of starch nanocrystals combining ball milling with acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 180(September 2017), 122–127. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.015>
- Effendi, Z., Surawan, F. E. D., dan Sulastri, Y. (2016). Sifat Fisik Mie Basah Berbahan Dasar Tepung Komposit Kentang dan Tapioka. *Jurnal Agroindustri*, 6(November), 57–64.
- Ega, L., dan Lopulalan, C. G. C. (2015). Modifikasi Pati Sagu Dengan Metode Heat Moisture Treatment. *AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian*, 4(2), 33–40. <https://doi.org/10.30598/jagritekno.2015.4.2.33>
- Faridah, D. N. (2011). Perubahan Karakteristik Kristalin Pati Garut (*Maranta arundinaceae* L.) dalam Pengembangan Pati Tesisten Tipe III. *Thesis*, 1–184.
- Harianies, L., Yuniarta, dan Argo, B. D. (2009). Pembuatan pati tinggi amilosa secara enzimatik dari pati ubi kayu (*Manihot esculenta*) dan aplikasinya untuk pembuatan maltosa. *El-Hayah*, 1(1), 14–24. <https://doi.org/10.18860/elha.v1i1.1683>
- Hashim, S. O. (2019). *Starch-Modifying Enzymes*. <https://doi.org/10.1007/10>
- Hassan, M. A. A., dan Puteh, M. H. (2007). *Pre-Treatment of Palm Oil Mill Effluent (POME): A Comparison Study Using Chitosan and Alum*. 19(2), 38–51.
- International Rice Research Institution (IRRI). (1978). *Standard Evaluation System for Rice*. IRRI.
- Jahi, N., Ling, E. S., Othaman, R., dan Ramli, S. (2015). Modification of oil palm plantation wastes as oil adsorbent for palm oil mill effluent (POME). *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 19(1), 31–40.
- Jasni, J., Arisht, S. N., Mohd Yasin, N. H., Abdul, P. M., Lin, S. K., Liu, C. M., Wu, S. Y., Jahim, J. M., dan Takriff, M. S. (2020). Comparative toxicity effect of organic and inorganic substances in palm oil mill effluent (POME) using native microalgae species. *Journal of Water Process Engineering*, 34(January), 101165. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101165>
- Kern dan Sohn GmbH. (2013). *Operating*

- manual Electronic Moisture Analyser KERN MLB \_ C.* 1–77.
- Kim, H. Y., Park, S. S., dan Lim, S. T. (2015). Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *126*, 607–620. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.11.011>
- Kim, J. Y., Park, D. J., dan Lim, S. T. (2008). Fragmentation of waxy rice starch granules by enzymatic hydrolysis. *Cereal Chemistry*, *85*(2), 182–187. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-2-0182>
- Kustyawati, M. E., Sari, M., dan Haryati, T. (2013). Efek Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka. *Agritech*, *33*(3), 281–287.
- Le Corre, D. (2011). *Starch nanocrystals : Preparation and Application to bio-based flexible packaging*. Université de Grenoble.
- Lecorre, D., Vahanian, E., Dufresne, A., dan Bras, J. (2012). Enzymatic pretreatment for preparing starch nanocrystals. *Biomacromolecules*, *13*(1), 132–137. <https://doi.org/10.1021/bm201333k>
- Lin, Y., Liu, L., Li, L., Xu, Y., Zhang, Y., dan Zeng, H. (2022). Properties and digestibility of a novel porous starch from lotus seed prepared via synergistic enzymatic treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, *194*(November 2021), 144–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.196>
- Majzoobi, M., Hedayati, S., dan Farahnaky, A. (2015). Functional properties of microporous wheat starch produced by  $\alpha$ -amylase and sonication. *Food Bioscience*, *11*, 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.05.001>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, *31*(3), 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Parwiyanti, Pratama, F., dan Arnita, R. (2011). Sifat Kimia dan Fisik Gula Cair dari Pati Umbi Gadung (*Dioscorea hispida* Dennts) [Chemical and Physical Properties of Liquid Sugar from Yam (*Dioscorea hispida* Dennts) Starch]. *Hasil Penelitian J. Teknol. Dan Industri Pangan*, *XXII*(2).
- Pramasari, D. A., Sondari, D., Adi, D. S., Widyaningrum, B. A., Fajar, A., Putri, R., Restu, W. K., dan Putri, E. H. (2020). Karakteristik Pati Berpori Mikro dari Tapioka Hasil Perlakuan Amilase sebagai Agen Penjerapan Minyak. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, *25*(2), 71–80.
- Purnawan, A., Capriyanti, Y., Kurniatin, P., dan Rahmani, N. (2015). Optimasi produksi enzim amilase dari bakteri laut jakarta (*Arthrobacter Arilaitensis*). *Indonesian Journal of Biology*, *11*(2), 215–224.
- Rahmani, N., Andriani, A., dan Prima, A. (2011). Production and characterization of amylase enzyme from marine bacteria. *Proceedings of the 2nd International Seminar on Chemistry. November 2011. Jatinangor*.
- Rahmani, N., Andriani, A., Yopi, Y., dan Hartati, S. (2015). Production of Malto-Oligosaccharides from Cassava Cultivar Kuning. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, *12*(3), 147–155.
- Rahmani, N., Putri, F. H., Martin, A. F., dan Yopi. (2019). Enzymatic Hydrolysis Of Hutan Jati Variety Cultivar Tacca (*Tacca leontopetaloides*) Starch by The *Brevibacterium* sp.  $\alpha$ -Amylase And Its Potential for Production of Maltooligosaccharides. *Biotropia*, *26*(2), 104–114. <https://doi.org/10.11598/btb.2019.26.2.890>
- Robertson, G. H., Wong, D. W. S., Lee, C. C., Wagschal, K., Smith, M. R., dan Orts, W. J. (2006). Native or raw starch digestion: A key step in energy efficient biorefining of grain. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 54(2), 353–365. <https://doi.org/10.1021/jf051883m>
- Romadona, D. N. (2012). *Hidrolisis pati palma menggunakan  $\alpha$ -amilase (Skripsi)*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Silva, N. M. C. Da, Lima, F. F. de, Fialho, R. L. L., Albuquerque, E. C. d. M. C., Velasco, J. I., dan Fakhouri, F. M. (2018). Production and Characterization of Starch Nanoparticles. *Applications of Modified Starches*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74362>
- Sondari, D., Kusumaningrum, W. B., Akbar, F., Putri, R., Fahmiati, S., Sampora, Y., dan Muawanah, A. (2020). Penambahan Fraksi Amilosa Terhadap Sifat Fisik Dan Mekanis Edible Film Pati Tapioka. *Jurnal Kimia Dan Kemasan*, 42(2), 74. <https://doi.org/10.24817/jkk.v42i2.6095>
- Uthumporn, U., Zaidul, I. S. M., dan Karim, A. A. (2010). Hydrolysis of granular starch at sub-gelatinization temperature using a mixture of amylolytic enzymes. *Food and Bioproducts Processing*, 88(1), 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2009.10.001>
- Vamadevan, V., dan Bertoft, E. (2015). Structure-function relationships of starch components. *Starch/Staerke*, 67(1–2), 55–68. <https://doi.org/10.1002/star.201400188>
- Winarno, F. . (2010). *Enzim Pangan* (Edisi Revi). M-Brio Press.
- Wu, Y., Du, X., Ge, H., dan Lv, Z. (2011). Preparation of microporous starch by glucoamylase and ultrasound. *Starch/Staerke Journal*, 63(4), 217–225. <https://doi.org/10.1002/star.201000036>
- Yunianta, Sulisty, T., Estiasih, T., dan Wulan, N. (2010). Hidrolisis Secara Sinergis Pati Garut (*Marantha arundinaceae* L.) Oleh Enzim Amylase, Glukoamilase dan Pullunase Untuk Produksi Sirup Glukosa. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 11, 78–86.
- Zhai, Y., Li, X., Bai, Y., Jin, Z., dan Svensson, B. (2022). Maltogenic  $\alpha$ -amylase hydrolysis of wheat starch granules: Mechanism and relation to starch retrogradation. *Food Hydrocolloids*, 124(PA), 107256. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107256>
- Zhang, D., Jiang, F., Ling, J., Ouyang, X. kun, dan Wang, Y. G. (2021). Delivery of curcumin using a zein-xanthan gum nanocomplex: Fabrication, characterization, and in vitro release properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 204, 111827. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111827>