

PEMBUATAN DEKSTRIN DARI PATI UBI KAYU MENGGUNAKAN KATALIS AMILASE HASIL FRAKSINASI DARI *Azospirillum* sp. JG3

Zusfahair dan Dian Riana Ningsih

Program Studi Kimia Jurusan MIPA Fakultas Sains dan Teknik
Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto
Jl. Soeparno 62, Karangwangkal, Purwokerto Jawa Tengah 53123
email: zusfahair@gmail.com

ABSTRAK

Amilase merupakan salah satu enzim potensial dalam proses industri. Amilase dapat diperoleh dari bakteri *Azospirillum* sp. JG3. Amilase ini dapat dimanfaatkan untuk hidrolisis pati ubi kayu pada pembuatan dekstrin. Dekstrin memiliki peran yang cukup penting dalam industri seperti pembuatan roti, makanan bayi dan bahan penyalut lapis tipis tablet. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi biokimiawi amilase hasil fraksinasi dari *Azospirillum* sp. JG3 serta potensinya dalam pembuatan dekstrin.

Tahap penelitian ini dimulai dengan memproduksi enzim yang dilakukan dengan cara menumbuhkan inokulum ke dalam medium produksi selama 30 jam kemudian diekstraksi dengan sentrifugasi sehingga diperoleh ekstrak kasar. Ekstrak kasar amilase kemudian difraksinasi secara bertahap (15%, 30%, 45% dan 60%) dengan menggunakan ammonium sulfat dan didialisis. Fraksi yang diperoleh diukur aktivitas, volume dan kadar proteinnya. Fraksi dengan aktivitas spesifik tertinggi dikarakterisasi dan digunakan untuk membuat dekstrin dari pati ubi kayu. Dekstrin pati ubi kayu yang diperoleh dikarakterisasi berupa rendemen, kadar air, kadar abu dan *dextrose equivalen*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi hasil dialisis 45% (FHD 45%) menghasilkan aktivitas dan aktivitas spesifik tertinggi berturut-turut sebesar 11,659 U/mL dan 7,319 U/mg. Aktivitas amilase optimum pada suhu 30°C, pH 7 dan konsentrasi substrat 4%. Dekstrin yang diperoleh memiliki rendemen 95,14, kadar air 3,411%, kadar abu 0,209% dan *dextrose equivalen* 13,4.

Kata kunci : **amilase, *Azospirillum* sp. JG3, dekstrin**

THE MAKING OF DEXTRIN OF CASSAVA STARCH USING AMYLASE OF FRACTIONATION CATALYST FROM *Azospirillum* sp. JG3

ABSTRACT

Amylase is one of potential enzyme in industrial processes. Amylase can be obtained from bacteria *Azospirillum* sp. JG3. Amylase can be used to hydrolysis starch of cassava in making of dextrin. Dextrin have an important role in industries such as making bread, baby food and a thin layer coating of tablets. This research aims to determine biochemical characterization of amylase fractionation of *Azospirillum* sp. JG3 and its potential in making dextrin.

This research began with producing an enzyme that was done by growing the inoculums into the production medium until 30 hours and then been extracted with centrifuge to obtain crude extract. The crude extract of amylase was fractionated continually (15%, 30%, 45% and 60%) by using ammonium sulfate and were dialyzed.

Fractions of amylase that was obtained had been measured its activity, volume and protein content. Fractions with highest specific activity were characterized and used to make dextrin from cassava starch. Cassava starch dextrin that was obtained had been characterized in the form of rendement, water content, ash content and dextrose equivalent.

The results showed that fraction of dialysis 45% yield the highest activity and specific activity were 11.659 U / mL and 7.319 U / mg. Amylase activity optimum at 30°C, pH 7 and substrate concentration at 4%. The rendement of dextrin was 95.14%, the water content was 3.411%, ash content was 0.209% and the dextrose equivalent at 13.4.

Keywords: Amylase, *Azospirillum* sp. JG3, dextrin

PENDAHULUAN

Dekstrin memiliki banyak manfaat dalam industri pangan dan farmasi diantaranya yaitu pada produksi makanan beku, roti, bahan minuman prebiotik dan bahan penyalut lapis tipis (*film coating*) tablet. Dekstrin dimanfaatkan sebagai pengganti gula dan untuk mempertahankan produk tetap beku. Kebutuhan dekstrin di bidang industri ini semakin meningkat, sedangkan sebagian besar dekstrin yang dibutuhkan masih impor. Hal ini menyebabkan diperlukan adanya produksi dekstrin yang dapat memenuhi kebutuhan industri tersebut terutama yang berasal dari sumber lokal seperti ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz).

Ubi kayu merupakan tanaman yang mudah beradaptasi di daerah tropis maupun subtropis dan mudah diperoleh dengan harga murah. Ubi kayu memiliki kandungan pati yang cukup tinggi yaitu mencapai 34,70% dalam 100 gram bahan (Rukmana dan Yuniarsih, 2001) sehingga tanaman ini sangat cocok dimanfaatkan sebagai sumber pati dalam pembuatan dekstrin. Pemanfaatan ubi kayu sebagai sumber pati bagi dekstrin selain untuk memenuhi kebutuhan dekstrin di bidang industri, juga dapat meningkatkan nilai ekonomi ubi kayu (Chafid dan Kusumawardani, 2010). Pati ubi kayu akan lebih cepat menjadi dekstrin melalui reaksi hidrolisis parsial dengan adanya bantuan enzim amilase. Dekstrin yang dihasilkan pada reaksi hidrolisis parsial

dapat diuji secara kualitatif dengan uji iodin sehingga dihasilkan warna merah kecoklatan, sedangkan pati dengan uji iodin menghasilkan warna biru

Enzim amilase yang digunakan dalam proses hidrolisis pembuatan dekstrin dapat diperoleh dari mikroorganisme. Penggunaan enzim dari mikroorganisme memiliki beberapa kelebihan diantaranya adalah isolasi lebih mudah, lebih sederhana dibandingkan enzim yang berasal dari tumbuhan maupun hewan dan dapat dikendalikan dengan baik pada proses pembuatannya. Hasil uji enzimatik yang dilakukan oleh Oedjjono dkk. (2007) terhadap isolat bakteri *Azospirillum* sp. JG3 menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki kemampuan amilolitik, selulolitik, proteolitik dan lipolitik. Berdasarkan kemampuan amilolitik yang dimiliki diharapkan isolat bakteri *Azospirillum* sp. JG3 dapat menghasilkan enzim amilase yang digunakan sebagai katalis dalam hidrolisis pati ubi kayu. Tujuan penelitian adalah mengetahui karakteristik biokimiawi amilase hasil fraksinasi dari bakteri *Azospirillum* sp. JG3 dan potensinya dalam pembuatan dekstrin.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat gelas, termometer, jarum ose pH meter "*Hanna instrument*",

eppendorf, pipet mikro otomatis merk *Wheaton Soccorex*, sentrifuge "*Heraeus*", *shaker bath* merk "*Memmert*", *water bath* merk "*Memmert*", *incubator* merk "*Venticell*", autoklaf, timbangan analitik, oven merk "*Memmert*", *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer* kompor listrik merk "*Maspion*", pembakar spiritus, Spektrofotometer UV-Vis merk "*Shimidzu UV-1601*", dan mortar.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *Azospirillum* sp. JG3, medium Nutrien Agar, medium inokulum (yeast ekstrak, pepton, amilum) medium produksi, ammonium sulfat, NaCl 1%, EDTA dalam 1% (b/v) Na₂CO₃, NaCl 0,85%, amilum 1%, Na-wolframat 10%, asam sulfat 2/3 N, glukosa, pereaksi Cu-tartrat alkalis, arsenomolibdat, akuades, ubi kayu segar diambil dari desa Padamara Purbalingga, etanol 95%, Iodin, Larutan Fehling A dan B, label, kantong selofan, buffer natrium asetat pH 5, buffer Na-fosfat pH 6-7, buffer Tris-HCl pH 8-9 dan Ba(OH)₂.8H₂O 2%, pereaksi A (2% Na₂CO₃ dalam 0,1 M NaOH), pereaksi B (0,5% CuSO₄.5H₂O dalam 1% Na-K tartrat, pereaksi C (campuran 50 ml pereaksi A dan 1 ml pereaksi B), pereaksi E (larutan 1 N pereaksi Folin Ciocalteu), larutan standar protein BSA (Bovine serum albumin).

Prosedur Penelitian

Produksi amilase

Isolat bakteri yang sudah diremajakan diinokulasi dengan cara memindahkan satu ose biakan bakteri ke dalam medium inokulum diinkubasi pada suhu ruang selama 12 jam. Sebanyak 10% inokulum pada fase eksponensialnya diinokulasikan ke medium produksi dan diinkubasi selama 30 jam pada suhu ruang dalam *shaker incubator*.

Ekstraksi (Shaw *et al.*, 1995)

Amilase yang telah diproduksi kemudian dipanen dengan cara

mensentrifus medium produksi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada keadaan dingin (4°C). Supernatan yang merupakan ekstrak kasar enzim amilase ditampung dan pelet dibuang.

Fraksinasi amilase (Soebardjo dan Soedigdo, 1992)

Ekstrak kasar amilase difraksinasi menggunakan garam ammonium sulfat dengan konsentrasi 15%, 30%, 45% dan 60%. Garam ammonium sulfat (15%) dilarutkan dalam ekstrak kasar amilase kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai terbentuk endapan. Ekstrak kasar amilase kemudian disentrifus pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam 25 mL NaCl 1% dan disimpan pada suhu 4°C sebagai fraksi endapan 15% (F15). Supernatannya ditambah garam ammonium sulfat hingga konsentrasi akhir 30%, selanjutnya dilakukan hal yang sama seperti F15, demikian pula dengan fraksi 45% dan 60% sehingga diperoleh F30, F45, dan F60.

Dialisis (Subardjo dan Soedigdo, 1992)

Semua fraksi yang diperoleh didialisis menggunakan kantong selofan untuk membebaskan molekul garamnya. Kantong selofan sebelumnya direndam dengan asam asetat 1% selama 1 jam lalu dibilas dengan akuades selama 15 menit, setelah itu direndam kembali dengan 0,001 M EDTA dalam 1% (b/v) Na₂CO₃ dan direndam dalam akuades 75°C hingga dingin. Fraksi-fraksi endapan tersebut dimasukkan ke dalam kantong selofan kemudian bagian atas dan bagian bawah kantong selofan diikat. Dialisis dilakukan pada suhu 4°C sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Dialisis dilakukan selama 15 jam dengan pergantian dialisat setiap 30 menit. Setiap dialisat yang dikeluarkan diuji dengan larutan Ba(OH)₂.8H₂O 2% untuk mengetahui apakah masih terdapat garam. Dialisis dihentikan bila dialisat

sudah tidak mengandung garam yang ditandai dengan tidak terbentuk endapan warna putih. Fraksi hasil dialisis dinamakan FHD15, FHD30, FHD45 dan FHD60 (Fraksi 15%, 30%, 45% dan 60%). Hasil dialisis diukur volume, aktivitas, karakteristik dan potensinya untuk pembuatan dekstrin.

Pengukuran aktivitas amilase (Metode Nelson-Somogy dalam Alexander dan Joan, 1993)

Pengukuran aktivitas amilase dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: ke dalam tabung reaksi kontrol dimasukan 0,5 mL larutan enzim dan 0,5 mL NaCl 0,85%, ke dalam tabung reaksi sampel dimasukan 5 mL substrat amilum 1%, pada tabung kontrol ditambahkan 1 mL larutan Na-wolframat 10% dan 1 mL asam sulfat 2/3 N. Kedua tabung diinkubasi pada suhu 37°C asal selama 5 menit. Tabung reaksi sampel ditambah 0,5 mL larutan enzim dan 0,5 ml NaCl 0,85% kemudian inkubasi dilanjutkan selama 30 menit. Aktivitas enzim dihentikan dengan menambahkan ke dalam tabung sampel 1 mL Na-wolframat 10% dan 1 mL asam sulfat 2/3 N. Tabung kontrol ditambahkan 5 mL substrat amilum 1% dan dicampur baik-baik.

Aktivitas amilase ditentukan dengan cara mengukur terbentuknya gula pereduksi menurut metode Somogy-Nelson yaitu ke dalam tabung dimasukan masing-masing 0,2 mL larutan sampel, 0,2 larutan kontrol dan 0,2 mL larutan glukosa standar 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 mg/mL. Masing-masing larutan ditambahkan 0,2 mL reagen Cu-tartrat alkalis, kemudian diaduk. Tabung reaksi ditutup dan dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam air dan ditambahkan 0,2 mL pereaksi arsenomolibdat.

Campuran dihomogenkan lalu diencerkan dengan menambahkan 7,4 mL akuades. Serapan diukur pada panjang gelombang 660 nm.

Penentuan kadar protein dengan Metode Lowry (Bollag *et al.*, 1996)

Kadar protein hasil ekstraksi dan fraksinasi ditetapkan untuk menghitung aktivitas spesifik amilase. Serangkaian larutan standar protein BSA (Bovine serum albumin) dengan konsentrasi 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mg/mL dalam buffer Tris-HCl pH 8 disiapkan dan masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda sebanyak 0,5 mL larutan protein dan larutan enzim, kemudian ditambahkan dengan 5 mL pereaksi C. Setiap tabung reaksi dibiarkan pada suhu kamar selama 10 menit, kemudian ditambah 0,5 mL pereaksi E dan dikocok. Larutan pada setiap tabung diukur absorbansinya dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 750 nm. Kadar protein yang diperoleh digunakan untuk penentuan aktivitas spesifik.

Penentuan suhu optimum enzim

Prosedur kerja penetapan suhu optimum enzim sama seperti pada uji aktivitas. Pengujian dilakukan pada pH optimum yang telah ditentukan sebelumnya dengan variasi suhu inkubasi pada 25°C, 30°C, 35°C, 40°C, 45°C dan 50°C.

Penentuan pH optimum enzim

Prosedur kerja penetapan pH optimum enzim sama seperti pada uji aktivitas, tetapi dengan variasi pH yaitu 5, 6, 7, 8 dan 9. Buffer pH yang digunakan adalah bufer natrium asetat pH 5, bufer Na-fosfat pH 6-7, bufer Tris-HCl pH 8-9.

Penentuan konsentrasi substrat optimum

Prosedur penentuan substrat optimum sama seperti uji aktivitas, dilakukan pada pH dan suhu optimum amilase. Variasi konsentrasi substrat yang digunakan adalah 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%.

Pembuatan dekstrin dari ubi kayu

a. Isolasi pati dari ubi kayu

Sebanyak 625 g ubi kayu segar yang telah dicuci dipotong-potong, kemudian dihaluskan dengan 500 mL air selama 1 menit (2x). Ubi yang telah lumat disaring dengan kain muslin, kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala 500 mL. Cairan yang keruh dibiarkan mengendap dan kemudian didekantasi. Endapan ditambah 100 mL air, diendapkan dan didekantasi. Endapan yang diperoleh ditambah dengan 50 mL akuades sambil diaduk, kemudian disaring dengan corong *butcner*. Pati yang diperoleh dikeringkan pada suhu kamar, diletakkan di atas kaca arloji yang telah ditetapkan bobotnya dan ditimbang.

b. Pembuatan dekstrin secara enzimatik (Shi, 2000)

Pati ubi kayu dilarutkan dengan akuades. Larutan pati dimasukkan ke dalam gelas piala di atas *water bath* berisi air. Gelatinisasi dilakukan selama 3 jam dalam *hotplate stirer* dengan suhu 95° C. Suhu diturunkan hingga 30°C. Enzim amilase ditambahkan dengan perbandingan enzim:substansi (1:10) sambil diaduk. Campuran terus diaduk dan diambil untuk dilakukan uji kualitatif dengan menggunakan larutan iodin setiap 60 menit sampai terbentuk warna merah kecoklatan pada jam ke-22. Campuran lalu dipanaskan pada air mendidih untuk menghentikan aktivitas enzim. Dekstrin cair yang diperoleh kemudian dikeringkan, setelah kering dekstrin tersebut dihaluskan dan dianalisis.

Analisis dekstrin

a. Rendemen

Rendemen dekstrin yang diperoleh dapat dihitung dengan cara membandingkan antara berat pati yang digunakan dan berat dekstrin yang diperoleh.

$$\text{Rendemen} = \frac{b}{a} \times 100\%$$

a = berat pati yang digunakan (g)

b = berat dekstrin yang diperoleh (g)

b. Kadar air (Sudarmaji, 1984)

Dekstrin ditimbang sebanyak 2 g, dimasukkan ke dalam cawan porselin yang sebelumnya telah ditimbang dan diketahui beratnya. Cawan porselin beserta dekstrin kemudian dimasukkan ke dalam oven yang diatur suhunya pada 105°C selama 3 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang massanya.

$$\text{Kadar Air} = \frac{(a-b)}{a} \times 100\%$$

Dimana;

a = berat dekstrin awal (g)

b = berat dekstrin setelah dikeringkan (g)

c. Kadar abu (Sudarmadji, 1984)

Dekstrin ditimbang sebanyak 2 g, dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya, kemudian dipijarkan dalam *muffle furnace* suhu 600°C selama 4 jam atau sampai semua dekstrin jadi abu. Cawan didinginkan dalam desikator dan ditimbang.

$$\text{Kadar Abu} = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Dimana;

a = berat abu (g)

b = berat kering pada saat awal (g)

d. Nilai *dextrose equivalen* (Shi, 2000)

Nilai *Dextrose equivalen* diawali dengan mencari nilai *Fehling factor* dengan cara 2,5 gram glukosa dilarutkan dengan akuades sampai 1000 ml lalu diambil 15 mL dan ditambah larutan Fehling A dan B masing-masing 5 mL. Campuran dididihkan kemudian dititrasi dengan larutan glukosa sampai warna coklat kemerahan, kebutuhan titran dicatat lalu *Fehling factor* dihitung dengan cara:

$$\text{FF} = \frac{\text{Kebutuhan titran (mL)} \times \text{berat glukosa (g)}}{1000}$$

Nilai *Dextrose equivalen* ditentukan dengan cara: larutan dekstrin dibuat dengan konsentrasi 1 g /100 mL dari hasil pembuatan dekstrin sebelumnya dengan basis pati kering, lalu dimasukkan buret. 50 mL akuades ditambahkan masing-masing 5 mL larutan Fehling A dan B dan 15 mL larutan glukosa. Larutan dididihkan dan dititrasi dengan larutan pati sampai berwarna coklat kemerahan. Titran yang dibutuhkan dicatat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

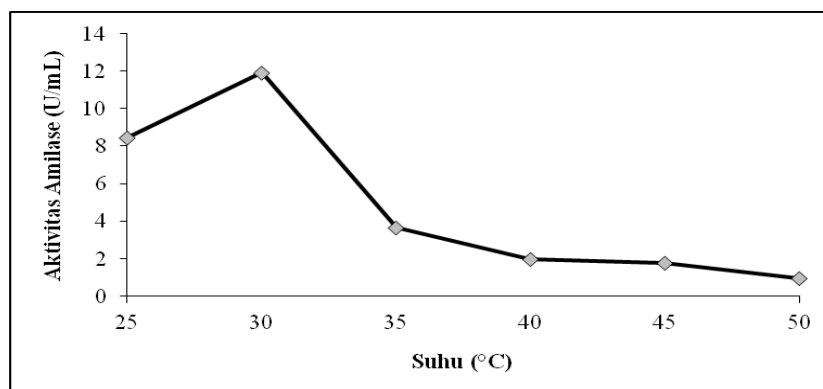
Ekstrak kasar amilase yang diperoleh dari bakteri *Azospirillum* sp. JG3 memiliki umur inokulum 12 jam dan diproduksi secara optimum selama 30 jam (Ningsih dan Zufahair, 2010). Ekstrak kasar amilase ini selanjutnya difraksinasi menggunakan garam amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄) dan didialisis. Penggunaan garam amonium sulfat karena mampu mengendapkan

protein dengan baik, dapat menstabilkan protein yang diendapkan, tidak beracun dan dapat digunakan pada pH tinggi (Scopes, 1987). Fraksi enzim dialisis dan ekstrak kasar diuji aktivitas dan kadar proteinnya yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil penelitian seperti terlihat pada Tabel 1, menunjukkan bahwa fraksi dengan aktivitas spesifik tertinggi yaitu fraksi hasil dialisis 45% dengan aktivitas spesifik sebesar 7,319 U/mg. Fraksi ini diduga mempunyai kelarutan yang relatif tinggi, dengan kemurnian 5,577 kali lebih besar dari ekstrak kasarnya. Fraksi-fraksi ammonium sulfat mempunyai kadar protein yang lebih rendah dari ekstrak kasarnya, hal ini karena fraksi ammonium sulfat telah melalui proses pemisahan yang menyebabkan protein non enzim yang tercampur dengan enzim berkurang. Fraksi hasil dialisis 45% ini selanjutnya ditentukan sifat-sifat biokimiawinya dan digunakan dalam pembuatan dekstrin.

Tabel 1. Data aktivitas spesifik ekstrak kasar dan fraksi hasil dialisis enzim amilase dari *Azospirillum* sp. JG3

Fraksi	Aktivitas enzim (U/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (U/mg)	Kemurnian
Ekstrak Kasar	3,445	2,625	1,312	1,000
FHD 15%	3,726	1,396	2,669	2,034
FHD 30%	3,095	0,587	5,273	4,018
FHD 45%	11,659	1,593	7,319	5,577
FHD 60%	0,023	0,571	0,040	0,031



Gambar 1. Kurva pengaruh suhu terhadap aktivitas amilase *Azospirillum* sp. JG3

Karakterisasi Enzim Amilase

Penentuan suhu optimum

Penentuan suhu optimum fraksi hasil dialisis 45% dilakukan untuk mendapatkan suhu optimum amilase sehingga diperoleh aktivitas optimum. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan hasil penelitian seperti terlihat pada Gambar 1 dan didukung analisis statistik, diketahui bahwa suhu 30°C berbeda nyata dengan suhu lainnya dan mempunyai nilai aktivitas 11,934 U/mL, sehingga dapat disimpulkan suhu optimum amilase FHD 45% dari *Azospirillum* sp. JG3 adalah 30°C. Aktivitas enzim dibawah 30°C memiliki aktivitas yang rendah disebabkan oleh rendahnya energi kinetik molekul enzim dan substrat. Aktivitas enzim semakin meningkat dengan kenaikan suhu hingga mencapai optimum, hal ini terjadi karena meningkatnya energi kinetik yang memperbesar peluang terjadinya tumbukan antara enzim dan substrat untuk bereaksi membentuk kompleks enzim-substrat sehingga produk yang dihasilkan meningkat. Kenaikan suhu melebihi suhu optimum menyebabkan penurunan aktivitas. Hal ini karena enzim mengalami denaturasi akibat panas yang tinggi. Suhu tinggi akan memecah ikatan-ikatan sekunder seperti ikatan hidrogen yang mempertahankan enzim pada suhu alaminya, sehingga struktur sekunder dan tersier enzim akan rusak secara parsial diikuti dengan menurunnya aktivitas (Poedjiadi, 1994).

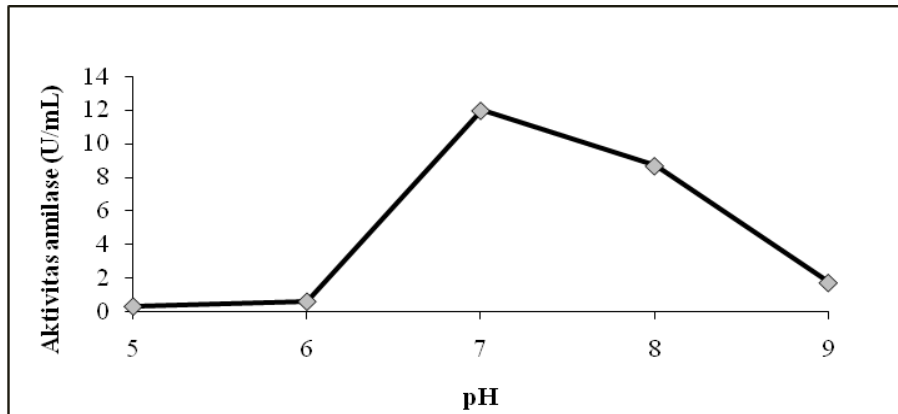
Azospirillum sp. JG3 merupakan bakteri mesofil yang hidup di dalam tanah. Menurut Theil (1999), bakteri mesofil memiliki suhu antara 20-50°C. Hal ini juga berpengaruh terhadap suhu optimum amilase yang diperoleh berada pada suhu mesofil. Hasil penelitian yang

diperoleh berbeda dengan hasil yang diperoleh Azmi (1997) dan Moreira (1999). Azmi (1997) memekatkan enzim amilase dari *Aspergillus oryzae* dengan ammonium sulfat 80% dan diperoleh suhu optimum amilase pada 40°C. Moreira (1999) melaporkan amilase yang diproduksi dari *Aspergillus tamarii* memiliki suhu optimum 55°C.

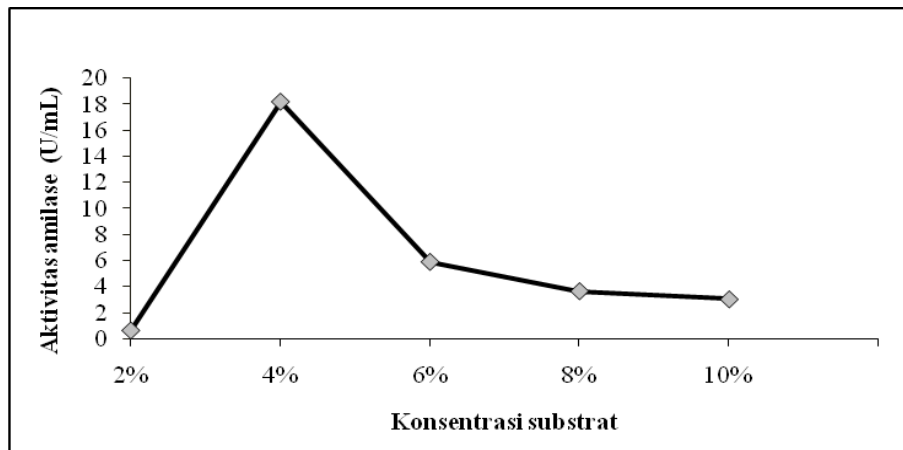
Penentuan pH optimum

Berdasarkan hasil penelitian seperti Gambar 2 dan didukung dengan analisis statistik, menunjukkan bahwa aktivitas enzim pada pH 7 berbeda nyata dengan aktivitas enzim pada pH yang lain dengan aktivitas tertinggi adalah 11,980 U/mL. Hal ini menunjukkan bahwa pH optimum amilase *Azospirillum* sp. JG3 adalah 7. Aktivitas enzim terus meningkat hingga tercapai pH optimum dan menurun setelah pH optimum. Perubahan pH merubah ionisasi rantai samping asam amino pada sisi aktif enzim dan akan berada pada kondisi paling baik ketika pH optimum (Garret dan Grisham, 1999). Enzim yang memiliki struktur tiga dimensi yang tepat dan berada pada konformasi terbaik menyebabkan enzim dapat mengikat dan mengolah substrat dengan kecepatan maksimum sehingga menghasilkan produk secara maksimum (Sadikin, 2002).

Hasil yang diperoleh sesuai dengan pernyataan Reddy *et al.*, (2003) bahwa enzim alfa amilase memiliki pH optimum pada pH 4-11. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil Sianturi (2008) yang melaporkan bahwa amilase yang diisolasi dari isolat bakteri PN7 memiliki pH optimum 7 dan Behal *et al.*, (2006) berhasil memperoleh amilase dari *Bacillus* sp. AB 04 dengan pH optimum 7-10.



Gambar 2. Kurva pengaruh variasi pH terhadap aktivitas amilase *Azospirillum* sp. JG3



Gambar 3. Kurva pengaruh konsentrasi substrat terhadap aktivitas amilase *Azospirillum* sp. JG3

Penentuan konsentrasi substrat optimum

Penentuan konsentrasi substrat optimum digunakan untuk mendapatkan kadar substrat yang tepat untuk menghasilkan aktivitas amilase optimum pada kondisi suhu dan pH optimum. Konsentrasi substrat optimum akan digunakan untuk produksi dekstrin. Hasil penentuan konsentrasi substrat optimum yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan hasil penelitian yang terlihat pada Gambar 3 menunjukkan bahwa diperoleh aktivitas amilase tertinggi pada konsentrasi substrat 4% dengan aktivitas 18,233 U/mL. Analisis statistik menunjukkan konsentrasi 4% berbeda nyata dengan konsentrasi

lainnya. Aktivitas meningkat pada konsentrasi substrat 4% kemudian menurun pada konsentrasi substrat 6% sampai 10%. Hal ini terjadi karena konsentrasi substrat sudah melebihi konsentrasi maksimum. Penambahan konsentrasi substrat sampai jumlah tertentu akan mempercepat reaksi enzimatik sampai mencapai optimum. Penambahan konsentrasi substrat melebihi konsentrasi maksimum tidak akan menambah kecepatan reaksi enzimatik, karena sisi aktif enzim telah berikatan semua dengan substrat sehingga penambahan konsentrasi substrat tidak akan mempengaruhi aktivitas enzim (Page, 1997). Penurunan aktivitas enzim setelah konsentrasi 4% terjadi dimungkinkan karena produk

menginhibisi atau menjadi inhibitor bagi enzim tersebut dan menyebabkan produksi produk terhambat atau terhenti (Soewoto, 2010).

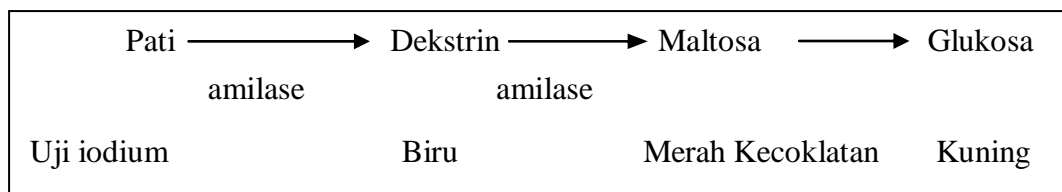
Pembuatan dekstrin dari pati ubi kayu

Pembuatan dekstrin dari pati ubi kayu dimulai dengan mengisolasi pati ubi kayu dan membuat larutan pati tersebut. Larutan pati yang diperoleh dinkubasi selama 3 jam pada suhu 95°C untuk proses gelatinisasi. Proses ini dimaksudkan untuk mempermudah proses interaksi antara pati dan enzim. Langkah selanjutnya adalah hidrolisis pati ubi kayu menjadi dekstrin dengan katalis amilase FHD 45% dari *Azospirillum* sp. JG3. Proses hidrolisis dilakukan pada kondisi optimum amilase FHD 45% tersebut yaitu suhu 30°C, pH 7 dan konsentrasi substrat 4%. Reaksi hidrolisis berlangsung selama 22 jam hingga diperoleh uji kualitatif dengan larutan iodin yang menghasilkan warna merah kecoklatan. Menurut Winarno (2002), dekstrin telah terbentuk dari hidrolisis pati jika hasil uji iod berwarna merah kecoklatan. Reaksi hidrolisis yang terjadi pada pembuatan dekstrin dan uji iodium yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 4.

Proses hidrolisis pada reaksi diatas memecah pati menjadi amilosa dan amilopektin. Penambahan amilase akan memutus ikatan α -1,4 glikosida pada amilosa sehingga menghasilkan dekstrin dan apabila reaksi diteruskan amilase akan memutus ikatan α -1,4 glikosida pada dekstrin sehingga dihasilkan maltosa dan glukosa.

Dekstrin yang diperoleh dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C. Dekstrin kering kemudian dikarakterisasi dan hasil yang diperoleh dibandingkan dengan SNI 01-2593 seperti pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil penelitian seperti pada Tabel 2, diatas diperoleh rendemen dekstrin dari ubi kayu sebanyak 95,14%. Rendemen ini lebih tinggi dari rendemen dekstrin umbi talas yaitu 78,56% (Triyono, 2006). Kadar air yang diperoleh sebanyak 3,41% menunjukkan bahwa dekstrin yang dihasilkan cukup tahan lama apabila disimpan. Hasil kadar air dari dekstrin yang diperoleh lebih kecil dari kadar air dekstrin pati umbi talas menggunakan enzim komersial diperoleh sebesar 7,69% (Triyono, 2006) dan masih dibawah standar kadar air maksimal menurut SNI. Menurut Winarno (2002), kadar air dalam makanan ikut menentukan daya tahan bahan tersebut serta mempengaruhi penampakan dan tekstur.



Gambar 4. Uji Iodium
(Sumber: Poedjiadi, 1994)

Tabel 2. Karakterisasi dekstrin dengan katalis amilase FHD 45% dibanding dengan SNI dekstrin.

No	Karakterisasi	Dekstrin SNI 01-2593	Dekstrin Pati Ubi Kayu
1.	Rendemen (%)	-	95,14
2.	Kadar Air (%)	Maksimal 11	3,41
3.	Kadar Abu (%)	Maksimal 0,5	0,21
4.	<i>Dekstros Equivalen</i>	Maksimal 20	13,3
5.	Uji Iodium	Ungu sampai kecoklatan	Merah Kecoklatan
6.	Warna	Putih sampai kekuningan	Kekuningan

Penentuan kadar abu dilakukan untuk mengetahui kandungan anorganik dari dekstrin. Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kadar abu yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 0,21%. Kadar abu yang diperoleh telah sesuai dengan SNI dekstrin. Kadar abu yang diperoleh masih lebih besar jika dibanding dengan dekstrin yang diperoleh dari pati garut dengan katalis HCl yaitu sebanyak 0,18% (Hermianti dan Abbas, 2006).

Pengukuran *dextrose ekuivalen* (DE) dilakukan untuk mengetahui seberapa jauh pati terhidrolisis menjadi molekul-molekul dengan rantai yang jauh lebih pendek khususnya menjadi dekstrin. Berdasarkan hasil analisis DE dekstrin dari pati ubi kayu menggunakan amilase FHD 45% diperoleh 13,3. Nilai DE yang diperoleh lebih besar dibandingkan dengan hasil dekstrin sagu yang diperoleh Chafid dan Kusumawardhani (2010) yaitu sebesar 10,23.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa amilase FHD 45% optimum pada suhu 30°C, pH 7 dan konsentrasi substrat 4%. Dekstrin pati ubi kayu dengan katalis amilase FHD 45% dari *Azospirillum* sp. JG3 memiliki rendemen 95,14%, kadar air 3,41%, kadar abu 0,21% dan DE 13,3.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Jurusan Mipa Fakultas Sains dan Teknik atas bantuan dana penelitian DIPA BLU dan kepada Rias Windiarti atas kerjasamanya selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, R. & M.G., Joan, 1993, *Basic Biochemical Methods*, 2nd Edition, John Willey and Sons, Inc. Publication.
- Azmi, J., 1997, Isolasi dan Pemurnian Enzim Amilase dari *Aspergillus oryzae* yang Ditumbuhkan pada Media Pati Suweg, *Jurnal Kimia Andalas*, Vol. 3 No.1
- Behal, A., J.S.M.K., Sharma, P., Puri & N., Batra, 2006, Characterization of Alkalin α -Amylase From *Bacillus* sp. AB 04, *International Journal of Agriculture and Biolog*, Vol.8 No.1
- Bollag, D.M., S.J., Edelstain & M.D., Rozycki, 1996, *Protein Method 1st Edition*, John Willey and Sons, Inc., New York.
- Chafid, A. & K., Kusumawardhani, 2010, Modifikasi Tepung Sagu menjadi Maltodekstrin menggunakan Enzim α -amilase, *Skripsi*, Fakultas Teknik UNDIP, Semarang.

- Garret, R.H. & C.M., Grisham, 1999, *Biochemistry*, 2nd Edition, Saunders Collage Publishing, USA.
- Herminiati, A. & A., Abbas, 2006, Pemanfaatan Dekstrin dari Pati Garut sebagai Bahan Dasar Makanan bagi Penyandang Autis, *Prosiding Seminar Nasional Iptek Solusi Kemandirian Bangsa*, 2-3 Agustus 2006, Yogyakarta.
- Moreira, F.G., 1999, Production of Amylase by *Aspergillus tamari*, *Revista de Microbiologia*, Vol. 30, 157-162.
- Ningsih, D.R. & Zusfahair, 2010, Karakterisasi Enzim Amilase dari *Azospirillum* sp. JG3, *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNDIP, Desember 2010*, Semarang.
- Oedjjono, D., Riyandini, & I.D.S.A.P., Peramiarti, 2007, Aktivitas Enzimatis *Azospirillum* pada Substrat Onggok dan Dedak. *Laporan Penelitian*, Fakultas Biologi Unsoed, Purwokerto.
- Page, D.S., 1997, *Prinsip-Prinsip Biokimia*, Erlangga, Jakarta.
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-Dasar Biokimia*, UI-Press, Jakarta.
- Reddy, N.S., A., Nimmagadda & K.R., Rao, 2003, An overview of themicrobial α -Amylase family, *African Journal of Biotechnology*, Vol. 2, 645-648.
- Rukmana, R. & Yuniarsih, 2001, *Aneka Olahan Ubi Kayu*, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Sadikin, M., 2002, *Seri Biokimia: Biokimia Enzim*, Widya Medika.
- Scopes, R.K., 1987, *Protein Purification*, Springer Verlag, New York.
- Shaw, Jei-Fu, Fu-Pang Lin, & Su-Chiu Chen, 1995, Purification and Properties of an Extracellular alfa Amylase from *Thermus* sp. *Botanical Buletin of Academia Sinica*, Vol. 36, 195-200.
- Shi, 2000, *High Solids, Single Phase Process for Preparing Enzyme-Converted Starches*, United State Patent No. 6,054,302.
- Sianturi, D.C., 2008, Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Panen Sebirubiru Sumatra Utara, *Thesis*, Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Soewoto, H., 2001, *Biokimia Experimen*, Laboratorium Widya Medika, Jakarta.
- Standar Nasional Indonesia (SNI)*, 01-2593, Pusat Standardisasi Industri Republik Indonesia, Departemen Perindustrian.
- Subardjo, B. & P. Soedigdo, 1992, "Ekstraksi, Isolasi dan Pemurnian Protein dan Bakteri Bongkrek *Pseudomonas cocovenenans* X-128", *Majalah Ilmiah-I (XIX)*:98-107.
- Sudarmadji, S., 1984, *Bahan-Bahan Pemanis*, Penerbit Agritech, Yogyakarta.
- Thiel, T., 1999, *Introduction to Bacteria. In Science in The Real World*, Deptement of Biology Univ.of Missouri, St. Louis.
- Triyono, A., 2006, Upaya Memanfaatkan Umbi Talas (*Colocasia esculeta*) sebagai Sumber Bahan Pati pada Pengembangan Teknologi Pembuatan Dekstrin, *Prosiding Seminar Nasional Iptek Solusi Kemandirian Bangsa*, 2-3 Agustus 2006, Yogyakarta.
- Winarno, F.G., 2002, *Kimia Pangan dan Gizi*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.