



PENENTUAN WAKTU PARUH ENZIM AMILASE AMOBIL DARI KECAMBANG KACANG HIJAU (*Phaseolus aureus*) PADA PRODUKSI GLUKOSA DARI MALTODEKSTRIN

[Determination of The Half-Life of Immobilized Enzyme From Mung Bean Sprouts (*Phaseolus aureus*) for Production of Glucose From Maltodextrin]

Nurain Turah^{1*}, Syaiful Bahri¹, Nurakhirawati¹

¹ Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Tadulako
Jl. Soekarno Hatta Km.9, Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Telp. 0451- 422611

Diterima 21 April 2017, Disetujui 20 Juni 2017

ABSTRACT

The investigation about determination of the half life of the immobilized enzyme from mung bean sprouts (*Phaseolus aureus*) for glucose production from maltodextrin has been done. The aim of the research are to determine the best ratio of mung bean sprouts to water for amylase enzyme isolation process, to determine the best alginate concentration for immobilization process, and to determine the half life of immobilized enzyme in hydrolyzing the maltodextrin to become glucose. This research was designed using completely randomized design (CRD), with 2 factorial pattern (the ratio of the mung bean sprouts toward the water and alginate concentration). Each factor consist of 5 levels (1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 (w/v) and 2%, 2.5%, 3%, 3.5% and 4% respectively). The observed parameter was glucose content. The result showed that the best ratio of mung bean sprouts toward the water was 3:1, while the best alginate concentration for glucose production was 3 %. The obtained glucose content of those parameter were 3966.52 mg/L and 4686.54 mg/L respectively. The obtained immobilized enzyme half life was 444,34 minutes.

Keywords: mung bean sprouts, alginate, amylase, maltodextrin, glucose.

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang penentuan waktu paruh enzim amobil dari kecambah kacang hijau (*Phaseolus aureus*) untuk produksi glukosa dari maltodekstrin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rasio kecambah kacang hijau : air terbaik untuk proses isolasi enzim amilase, dan konsentrasi terbaik alginat untuk proses amobilisasi serta menentukan waktu paruh enzim amobil dalam menghidrolisis maltodekstrin menjadi glukosa. Penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 2 faktor yaitu rasio kecambah kacang hijau : air terdiri atas 5 taraf (1:1, 2:1, 3:1, 4:1, dan 5:1 (b/v)) dan konsentrasi alginat terdiri dari 5 taraf (2%, 2,5%, 3%, 3,5%, dan 4%) yang masing-masing dilakukan secara duplo. Parameter yang diamati adalah kadar glukosa. Hasil penelitian menunjukkan rasio kecambah kacang hijau : air terbaik untuk produksi amilase kasar yang digunakan dalam produksi glukosa dari maltodekstrin adalah 3:1 (b/v) dengan kadar glukosa 3966,52 mg/L, konsentrasi alginat terbaik yang digunakan sebagai bahan pengamobil amilase kasar untuk produksi glukosa dari maltodekstrin adalah konsentrasi 3% dengan kadar glukosa 4686,54 mg/L, dan waktu paruh enzim amobil yang diperoleh adalah 444,34 menit.

Kata Kunci : kecambah kacang hijau, alginat, amilase, maltodekstrin, glukosa.

*) Corresponding Author : nurainturah28@gmail.com (085299340770)

LATAR BELAKANG

Glukosa termasuk golongan monosakarida dengan gugus utama aldehid dan termasuk senyawa aldosa. Glukosa dapat diproduksi dengan cara proses hidrolisis pati baik menggunakan katalis asam maupun katalis enzim berupa enzim amilase. Penggunaan metode hidrolisis secara enzimatik lebih baik jika dibandingkan menggunakan asam, karena enzim bekerja secara spesifik sehingga produk yang dihasilkan sesuai dengan yang diinginkan. Selain itu, biaya pemurnian produk lebih mudah dan produk samping yang dihasilkan kecil (Winarno, 1995).

Produksi enzim dalam bentuk murni memerlukan biaya yang cukup tinggi, sehingga perlu dicarikan alternatif dengan memanfaatkan sumber daya alam dengan cara perkecambahan pada bahan yang banyak mengandung amilum. Kecambah kacang hijau adalah salah satu yang berpotensi sebagai sumber enzim α -amilase (Suarni & Patong, 2007). Penelitian Suarni dan Ubbe (2005), telah melakukan modifikasi pati jagung menggunakan enzim β -amilase yang berasal dari kecambah kacang hijau. Enzim β -amilase yang digunakan tidak dipisah dari kecambah.

Enzim umumnya larut baik dalam air sehingga enzim menjadi tidak ekonomis bila digunakan secara berulang. Langkah yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan cara membuat enzim amobil melalui proses

imobilisasi enzim. Bahan yang umum digunakan sebagai pengamobil adalah alginate dan bahan lainnya.

Dewasa ini telah banyak ditemukan berbagai teknik amobilisasi enzim sehingga dapat menekan biaya produksi tanpa mengurangi aktivitas dari enzim tersebut. Khairunnisa dkk. (2013), telah melakukan penelitian tentang amobilisasi enzim α -amilase ke dalam matriks *bacto agar* dengan penurunan aktivitas sebesar 44,83 % pada pemakaian ketiga. Ratnaningsih (2004) telah melakukan penelitian tentang amobilisasi lipase pada matriks alginat, dan diperoleh konsentrasi terbaik dari alginat yang digunakan adalah sebesar 2 %. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut maka perlu adanya kajian tentang proses amobilisasi amilase kasar dengan menggunakan alginat sebagai *carrier*.

Efektifitas penggunaan enzim amobil dapat dilihat berdasarkan hasil hidrolisis enzim amobil tersebut terhadap substrat yang digunakan. Salah satu faktor yang dapat menjadi parameter kestabilan enzim amobil adalah waktu paruh.

Waktu paruh enzim didefinisikan sebagai waktu yang dibutuhkan oleh enzim untuk berinteraksi dengan substrat pada suhu tertentu yang menyebabkan penurunan aktivitas enzim hingga 50% dari aktivitas semula (Chaplin dan Bucke, 1990). Dalam penelitian akan diuji aktivitas dan efektifitas penggunaan enzim amobil. Berapa kali enzim amobil ini dilakukan sehingga masa paruhnya dapat diketahui.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan utama yang digunakan adalah maltodekstrin, glukosa, kecambah kacang hijau (2 hari), ammonium sulfat teknis, pereaksi DNS, alginat, CaCl_2 , NaOH 0,1 N, dan akuades.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik, water bath, lumpang dan alu, spektrofotometer UV-Vis (Perkin Elmer Lambda 25), hot plate, kuvet, kain saring, aluminium foil, dan peralatan gelas penunjang lainnya.

Prosedur Penelitian

Isolasi Amilase dari Kecambah Kacang Hijau (Bahri et al., 2012)

Isolasi amilase dilakukan penambahan air dengan variasi kecambah kacang hijau : air 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 dan 1:5 (v/b). Kecambah dihancurkan menggunakan blender, kemudian disaring dengan kain saring. Ekstrak kecambah sebanyak 100 mL ditambahkan ammonium sulfat sebanyak 55 g (tingkat kejenuhan 55%). Campuran diaduk sampai homogen, kemudian didinginkan selama 24 jam sampai terbentuk koagulan. Koagulan dipisahkan dari larutan menggunakan Buchner. Endapan yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin selama 1 jam dan dimasukkan ke dalam pengering beku. Endapan yang diperoleh diuji aktivitasnya.

Amobilisasi Amilase dengan Alginat (Bala, 2014)

Membuat larutan alginat dengan konsentrasi 2 %; 2,5 %; 3 %; 3,5 % dan

4% (b/v). Masing-masing ditambahkan ekstrak amilase kasar dengan perbandingan enzim dan alginat 1:10 (b/v), Campuran dimasukkan ke dalam alat injeksi, kemudian dibiarkan menetes ke dalam wadah yang berisi CaCl_2 1 M dan terbentuk bola-bola kecil (gel). sambil diaduk. Gel yang terbentuk didiamkan 2 jam sampai gel mengeras. Gel enzim amilase amobil yang dihasilkan disimpan dalam lemari pendingin.

Hidrolisis Maltodekstrin Menggunakan Amilase Amobil (Modifikasi Lughraha dan Dimas, 2008)

Membuat larutan maltodekstrin 20 % (b/v), dengan cara melarutkan maltodekstrin sebanyak 20 g ke dalam labu ukur 100 mL. Larutan maltodekstrin sebanyak 30 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan enzim amobil sebanyak 10 g (perbandingan 1:3 (b/v)), selanjutnya ditambahkan buffer posfat pH 6 dan dipanaskan pada suhu 60 °C selama 3 jam.

Penetapan Kadar Glukosa dengan Metode DNS (Chafid dan Kusumawardani, 2010)

Sebanyak 1 mL larutan gula hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 3 mL pereaksi DNS, selanjutnya dipanaskan pada penangas air mendidih selama 5 menit kemudian didinginkan pada suhu ruang. Larutan dipindahkan ke dalam kuvet, absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 550 nm. Kadar glukosa ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi kurva standar.

Penentuan Waktu Paruh Amilase Amobil

Amilase amobil dengan aktivitas terbaik pada perlakuan sebelumnya digunakan secara berulang, kemudian ditentukan kadar glukosanya, dan selanjutnya ditentukan orde reaksi dari reaksi. Waktu paruh enzim amobil ditentukan berdasarkan nilai slope dari persamaan regresi linear yang diperoleh.

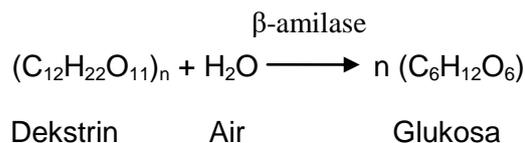
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Amilase dari Kecambah Kacang Hijau

Rendemen amilase kasar yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan perbandingan kecambah kacang hijau dan air yaitu 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, dan 5:1 (b/v) adalah berturut-turut adalah 1,16%; 1,28%; 1,50%; 1,21% dan 1,02%.

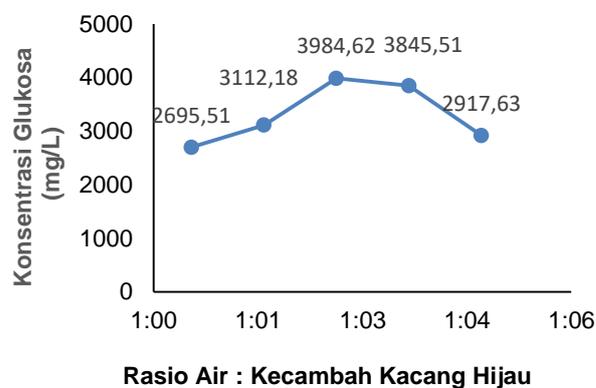
Ekstrak kasar enzim yang diperoleh diuji aktivitas amilasanya dalam menghidrolisis maltodekstrin menjadi glukosa dengan penambahan buffer posfat pH 6. Penambahan buffer posfat ini bertujuan untuk mempertahankan pH larutan dalam sistem. Menurut Soebijanto (1986), aktivitas enzim β-amilase bekerja efektif pada pH 5,0-6,0.

Enzim β-amilase bekerja secara eksoamilase yaitu memutus ikatan 1,4-glikosidik dari ujung rantai maltodekstrin dalam proses sakarifikasi. Proses sakarifikasi merupakan proses hidrolisis maltodekstrin menjadi glukosa dengan mekanisme reaksi sebagai berikut :



Gambar 1. Reaksi hidrolisis menggunakan β-amilase (Perry *et al.*, 1999)

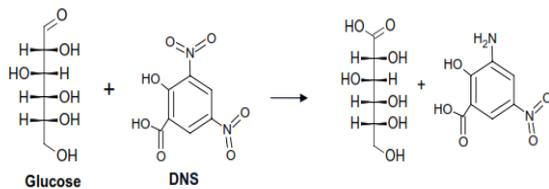
Rasio antara kecambah kacang hijau dan air berkorelasi positif terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan (Gambar 2). Aktivitas amilase tertinggi dapat dilihat berdasarkan konsentrasi glukosa yang dihasilkan dalam proses hidrolisis. Konsentrasi glukosa tertinggi yang dihasilkan adalah 3.984,62 mg/L, dengan berat glukosa 0,1426 g dan rendemen glukosa sebesar 1,426 % pada perbandingan 1:3 (air : kecambah kacang hijau).



Gambar 2. Grafik pengaruh rasio air dan kecambah kacang hijau terhadap konsentrasi glukosa hasil hidrolisis.

Glukosa yang dihasilkan diukur kadarnya dengan metode DNS yaitu menggunakan pereaksi DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat). Pereaksi ini direduksi oleh gula pereduksi menghasilkan asam 3-amino-5-nitrosalisilat (Gambar 3). Hal tersebut dapat dilihat berdasarkan

perubahan warna yang terjadi dari warna kuning menjadi merah bata setelah pemanasan. Selanjutnya sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm. Banyaknya DNS yang tereduksi berbanding lurus dengan banyaknya kadar glukosa yang diperoleh dalam sampel.



Gambar 3. Reaksi Glukosa dengan Asam 3,5-Dinitrosalisilat (Miloski *et al.*, 2008).

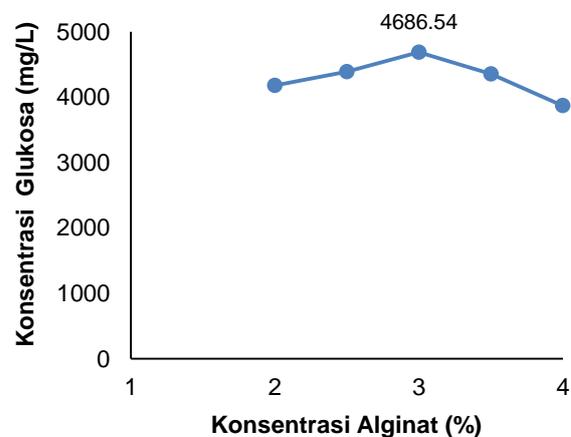
Konsentrasi glukosa yang dihasilkan mengalami peningkatan dari perbandingan 1:1 sampai 1:3, kemudian mengalami penurunan pada perbandingan 1:4 dan 1:5 (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh jumlah kecambah kacang hijau terhadap aktivitas enzim amilase yang dihasilkan. Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya pengaruh dari tingkat kejenuhan ammonium sulfat yang digunakan sebagai pengendap molekul-molekul protein dari kecambah kacang hijau yang digunakan sebagai sumber amilase. Semakin banyak kecambah yang digunakan maka molekul protein yang diendapkan semakin banyak, namun setelah mencapai titik tertentu maka molekul protein yang terendapkan semakin berkurang seiring bertambahnya jumlah kecambah yang digunakan, sebab kecambah juga mengandung cukup banyak kadar air. Kadar air yang terlalu

banyak mempengaruhi tingkat kejenuhan dari ammonium sulfat yang digunakan, sehingga proses *salting out* tidak terjadi secara sempurna (Bahri *et al.*, 2012).

Amilase Terimobilisasi Alginat

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi alginat terhadap aktivitas enzim amobil dalam menghasilkan kadar glukosa terbaik diterapkan variasi konsentrasi alginat. Enzim yang digunakan dalam perlakuan ini adalah enzim yang telah diisolasi dari kecambah kacang hijau pada perlakuan sebelumnya. Sedangkan perbandingan enzim dan alginat yang diterapkan adalah 1:10 (Bala, 2012).

Konsentrasi alginat berkorelasi positif terhadap aktivitas enzim amobil yang dihasilkan (Gambar 4). Aktivitas amilase amobil tertinggi dapat dilihat berdasarkan konsentrasi glukosa yang dihasilkan dalam proses hidrolisis. Konsentrasi tertinggi yang dihasilkan adalah 4.686,54 mg/L, dengan berat glukosa 0,199 g dan rendemen glukosa sebesar 1,922 % pada konsentrasi alginat 3%.



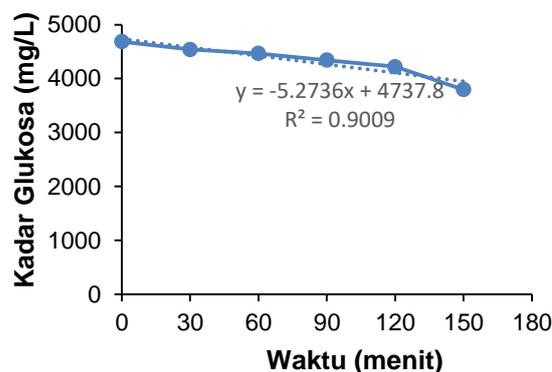
Gambar 4. Grafik pengaruh konsentrasi alginat terhadap konsentrasi glukosa hasil hidrolisis.

Konsentrasi alginat yang digunakan sebagai bahan pengamobil berpengaruh terhadap aktivitas enzim amilase amobil dalam menghidrolisis maltodekstrin menjadi glukosa, hal tersebut dapat dilihat berdasarkan kadar glukosa yang dihasilkan (Gambar 4). Hal tersebut disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi alginat maka kekuatan gel yang terbentuk semakin kuat. Semakin kuat gel yang terbentuk maka semakin sulit terjadinya kontak enzim dengan substrat yang ada, sebab kekuatan gel mempengaruhi distribusi substrat ke dalam pori-pori gel alginat (Ratnaningsih, 2004). Sehingga pada konsentrasi alginat yang tinggi kadar glukosa yang dihasilkan semakin rendah. Smith (1990) menyatakan bahwa amobilisasi enzim dengan metode penjebakan akan menyebabkan penghambatan kerja enzim, sebab bahan pengamobil yang digunakan dalam metode penjebakan cenderung memiliki berat molekul yang tinggi sehingga mengganggu interaksi antara enzim dan substrat. Menurut Ratnaningsih (2004), semakin tinggi konsentrasi alginat yang digunakan dalam proses amobilisasi maka ukuran pori-pori dari manik-manik yang dihasilkan (enzim amobil) semakin kecil sehingga akan menghambat difusi substrat ke dalam manik-manik Ca-alginat.

Waktu Paruh Enzim Amilase Amobil dari Kecambah Kacang Hijau

Waktu paruh enzim amobil yang dihasilkan ditentukan dengan melakukan penggunaan ulang enzim amobil tersebut

dengan interval waktu 30 menit pada tiap pengulangan.



Gambar 5. Grafik hubungan kadar glukosa terhadap waktu penggunaan ulang enzim amobil pada orde nol.

Semakin banyak penggunaan enzim amobil secara berulang maka kadar glukosa yang dihasilkan semakin rendah (Gambar 5). Hal ini disebabkan karena terjadi penurunan aktivitas enzim amobil seiring dengan adanya penggunaan berulang. Penurunan aktivitas ini terjadi akibat pelepasan enzim dari polimer (bahan pengamobil) yang digunakan selama pemakaian, sebab tidak adanya pengikatan secara kimia antara enzim dan gel alginat yang digunakan, sehingga enzim mudah lepas dan keluar bersama produk yang terbentuk. Semakin banyak penggunaan berulang maka jumlah enzim dalam gel semakin berkurang (Su'i dkk., 2007).

Berdasarkan persamaan yang diperoleh (Gambar 5), dapat ditentukan waktu paruh enzim amobil dari kecambah kacang hijau yang diperoleh yaitu 444,34 menit. Menurut Yandri dan Wulandari (2009), waktu paruh enzim α -amilase setelah penambahan sorbitol 1 M yaitu sebesar 48,80 menit.

KESIMPULAN

Rasio terbaik antara kecambah kacang hijau dan air untuk produksi amilase kasar yang digunakan dalam produksi glukosa dari maltodekstrin adalah 3:1 (b/v) dengan rendemen glukosa sebesar 1,426 %, sedangkan konsentrasi terbaik alginat yang digunakan sebagai bahan pengamobil amilase kasar dari kecambah kacang hijau untuk produksi glukosa dari maltodekstrin adalah 3 % dengan rendemen glukosa sebesar 1,922 %, dan waktu paruh dari enzim amilase amobil adalah 444,34 menit.

UCAPAN TERIMAKASIH

Secara khusus peneliti menyampaikan ucapan terima kasih kepada Laboran Jurusan Kimia dan Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKIM) FMIPA UNTAD.

DAFTAR PUSTAKA

- Bala, S. 2014. Kajian Imobilisasi Enzim Invertase untuk Produksi Gula Invert dari Nira Kelapa. *Skripsi*. Palu: Program Studi Kimia. Universitas Tadulako.
- Chafid A., Kusumawardani G. 2010. Modifikasi Tepung Sagu Menjadi Maltodekstrin Menggunakan Enzim α -amilase. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Chaplin M.F. dan Bucke C. 1990. *Enzyme Technology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Bahri, S., Mirzan, M., & Hasan, M. (2013). Karakterisasi Enzim Amilase Dari Kecambah Biji Jagung Ketan (*Zea mays ceratina L.*). *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 1(1).
- Khairunnisa, Wuryanti, Taslimah. 2013. Isolasi, Karakterisasi dan Amobilisasi α -amilase dari *Aspergillus FNCC 6018*. *Chem Info*. 1 (1) : 141-149.
- Lugraha A., Dimas Damar A. 2008. Pemanfaatan Sukun (*Artocarpus altiris*) sebagai Bahan Baku Pembuatan Gula Rendah Kalori Secara Enzimatis Menggunakan Enzim β -amilase dari Kecambah Kacang Hijau. *Proceeding Seminar Hasil Penelitian*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Miloski K., Wallace K., Fenger A., Schneider E. 2008. *Comparison of Biochemical and Chemical Digestion and Detection Methods for Carbohydrates*. New York: Department of Chemistry State University of New York-Oswego.
- Perry, Robert H., Don W. Green, James O. Maloney. 1999. *Perry's Chemical Engineers. Handbook*. USA: McGraw Hill Company Inc.
- Ratnaningsih N. 2004. Pengaruh Variasi Konsentrasi Alginat dan Konsentrasi Lipase Terhadap Aktivitas Hidrolisis dan Aktivitas Spesifik Lipase Amobil Pada Proses Amobilisasi Lipase dari *Rhizopus Delemar*. *Jurnal Penelitian Saintek*. 9 (1) : 31-49.
- Smitth J. E. 1990. *Biotechnology*. Penerjemah Hartono, A. Buku Kedokteran Indonesia. Jakarta: Gramedia.
- Soebijanto. 1986. *HFS dan Industri Ubi Kayu Lainnya*. Jakarta: Gramedia.
- Suarni dan U. Ubbe. 2005. Perbaikan Kandungan Nutrisi dan Sifat Fisikokimia Tepung Sorgum dengan Enzimatis (β -amilase) dari Kecambah Kacang Hijau. *Proceeding Seminar Nasional Kimia*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Suarni, Patong R. 2007. Potensi Kecambah Kacang Hijau sebagai Sumber Enzim α -Amilase. *Indo J. Chem*. 7 (3) : 332-336.
- Su'i M., Yunianta, Harijono, Aulani'am. 2007. Perubahan Aktivitas Enzim

Amobil Lipase dari Kentos Kelapa.
Agritech Universitas Brawijaya.
Malang. 30 (3) : 81-85.

Winarno, F.G. 1995. *Kimia Pangan dan Gizi.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Yandri A.S., Pretty Wulandari. 2009. Pengaruh penambahan sorbitol terhadap stabilitas termalEnzim α -amilase dari *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Sains MIPA.* 15 (2) : 111 – 118.