

**KARAKTERISTIK PATI BERPORI MIKRO DARI TAPIOKA HASIL PERLAKUAN AMILASE SEBAGAI AGEN PENJERAPAN MINYAK**

*[The Characteristic of Microporous Tapioca Starch After Amylase Treatment For Oil Adsorbent Agent]*

**Dwi Ajas Pramasari<sup>1\*</sup>, Dewi Sondari<sup>1</sup>, Danang Sudarwoko Adi<sup>1</sup>, Bernadeta Ayu Widyani<sup>1</sup>, Anugerah Fajar<sup>1</sup>, Rahmawati Putri<sup>1</sup>, Witta Kartika Restu<sup>2</sup>, Eka Hapsari Putri<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Pusat Penelitian Biomaterial-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

<sup>2</sup>Pusat Penelitian Kimia- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia

<sup>3</sup>Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya

\*Email korespondensi: dwi.ajas@gmail; dwia010@lipi.go.id

Diterima: 14 April 2020

Disetujui : 10 Agustus 2020

DOI: <http://dx.doi.org/10.23960/jtihp.v25i2.71-80>

**ABSTRACT**

*Microporous starch prepared by partial hydrolysis using amylase enzyme at a temperature below the gelatinization point can be used as an oil adsorbent agent. This study aimed to determine partially hydrolyzed tapioca characteristics using amylase produced by *Brevibacterium sp.* for an oil adsorbent agent compared to those with a commercial amylase product. The microporous starch assessment included yield, oil adsorption level, starch particle size, chemical functional groups, starch morphology, and starch color. The experimental design used a single factor completely randomized design (CRD), namely amylase treatment from *Brevibacterium sp.* and a comparative treatment (commercial amylase and native starch) for three times. The results showed that the microporous treated with amylase from *Brevibacterium sp.* had lower oil adsorption level (91.08-94.70%), and bigger porous size ( $14.60 \pm 0.03\mu\text{m}$ ) but had higher yield value (74.65%) compared to those of commercial amylase treatment. Chemical functional groups using FTIR, porous morphology observation, and color test from *Brevibacterium sp.* amylase treatment did not differ from commercial amylase treatment. Thus, microporous starch from the  $\alpha$ -amylase enzyme hydrolysis originated from Indonesian marine microbes, namely, *Brevibacterium sp.* is quite competitive to be used as an oil adsorbent agent.*

*Keywords: amylase, Brevibacterium sp., microporous starch, oil adsorbent agent*

**ABSTRAK**

Pati berpori mikro yang dibuat melalui hidrolisis parsial menggunakan enzim amilase pada suhu dibawah titik gelatinisasi dapat digunakan sebagai agen penjerap minyak. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakteristik tapioka yang dihidrolisis parsial menggunakan amilase produksi *Brevibacterium sp.* untuk pembuatan agen penjerap minyak dibandingkan dengan hasil hidrolisis dengan produk amilase komersial. Penilaian pati berpori mikro meliputi hasil rendemen, daya jerap minyak, ukuran partikel pati, gugus fungsi kimiawi, morfologi pati dan warna pati. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* dan perlakuan pembanding (amilase komersial dan pati alami) sebanyak tiga kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan pati berpori perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* mempunyai daya jerap (91,08-94,70%) lebih rendah, ukuran pori pati ( $14,60\pm 0,03\mu\text{m}$ ) lebih besar namun mempunyai nilai rendemen jauh lebih tinggi (74,65%) dari perlakuan amilase komersial. Gugus fungsi kimiawi dengan FTIR, morfologi pori dan warna perlakuan amilase *Brevibacterium sp.* tidak berbeda dengan perlakuan amilase komersial. Dengan demikian, pati berpori mikro dari hidrolisis enzim  $\alpha$ -amilase

yang berasal dari mikroba laut Indonesia yaitu *Brevibacterium sp.* cukup kompetitif untuk dijadikan agen penjerap minyak.

Kata kunci : agen penjerap minyak, amilase, *Brevibacterium sp.*, pati berpori mikro

## PENDAHULUAN

Pati berpori mikro (*microporous starch*) merupakan hasil modifikasi pati dengan cara membuat pori berukuran mikro dari permukaan granula yang meluas hingga ke bagian tengah, sehingga kisi permukaan dari struktur granula termodifikasi memiliki lubang, pori dan terbuka yang membuat molekul yang lebih kecil dapat masuk ke dalam granula tersebut. Modifikasi pati yang dilakukan dapat berupa metode fisik, kimia maupun biologi (Wu *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2012).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa pembuatan pati berpori efektif dengan menggunakan cara enzimatik baik sendiri maupun digabungkan dengan perlakuan lainnya seperti penggunaan ultrasonikasi (Wu *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2012). Menurut Qian *et al.* (2011) dan Liu *et al.* (2018) granula pati berpori terbentuk dari hidrolisis parsial pada pati menggunakan amilase pada suhu di bawah titik gelatinisasinya, sehingga enzim dapat bekerja tanpa merusak integritas dari granula tersebut. Selain itu, Majzoobi *et al.* (2015) menyatakan bahwa enzim yang biasa digunakan untuk perlakuan enzimatik untuk pati berpori adalah  $\alpha$ -amilase dan glucoamilase. Umumnya sumber enzim amilase berasal dari mikroorganisme genus *Bacillus* seperti *B.stearothermophilus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, dan *B. amyloliquefaciens* ataupun dari *Aspergillus sp.* (Abdullah *et al.*, 2014; Purnawan *et al.*, 2015; Simair *et al.*, 2017). Sumber lain yang potensial sebagai penghasil amilase adalah mikroba laut karena memiliki karakteristik unik dan spesifik misalnya *Brevibacterium sp.* yang diperoleh dari perairan Indonesia (Rahmani *et al.*, 2011; Purnawan *et al.*, 2015).

Tanaman potensial sebagai sumber pati berpori adalah ubi kayu. Berdasarkan

data Badan Pusat Statistik rata-rata produksi ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) di Indonesia pada kurun waktu 2014-2018 berkisar 20,788,691 ton. Syamsir *et al.* (2009) menyatakan bahwa pati ubi kayu (tapioka) memiliki proses ekstraksi yang relatif sederhana dengan sifat patinya yang memiliki ciri khas warna dan bau yang netral. Selain itu, pati tapioka memiliki kelimpahan bahan, mudah diperoleh, dan harga yang relatif murah.

Penelitian terkait agen penjerapan (adsorpsi) pada pencemaran lingkungan khususnya limbah cair yang sering dilakukan menggunakan karbon aktif, namun biaya untuk membuat bahan baku karbon aktif cukup mahal terutama untuk menghasilkan karbon aktif yang berkualitas. Adsorpsi adalah proses pemisahan kesetimbangan yang diakui sebagai metode yang efisien dan ekonomis untuk diaplikasikan pada air yang mengalami kontaminasi (Alila *et al.*, 2011).

Peningkatan biaya adsorben berbasis biopolimer menjadi kajian yang menarik saat ini. Salah satu bahannya dengan menggunakan pati, dikarenakan ketersediaan pati yang melimpah, berbiaya rendah dan aman bagi lingkungan menjadi keunggulan dari penggunaan pati (Alila *et al.*, 2011). Selain kemampuannya untuk menyerap logam beracun, pati yang dimodifikasi dapat menjadi agen penjerapan minyak dan penghilang polutan organik (Alila *et al.*, 2011; Majzoobi *et al.*, 2015).

Penelitian modifikasi pati tapioka telah banyak dilakukan, namun yang fokus pada pati berpori menggunakan enzim amilase dari isolasi mikroba laut Indonesia belum pernah dilaporkan sebelumnya. Selain itu, informasi penggunaan pati tapioka berpori hasil hidrolisis enzimatik sebagai agen penjerapan minyak masih jarang dilakukan. Tujuan penelitian ini ada-

lah untuk mengetahui karakteristik tapioka hasil hidrolisis parsial oleh amilase dari *Brevibacterium sp.* untuk menjadi agen penjerap minyak dibandingkan dengan pati berpori mikro hasil hidrolisis amilase komersial.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah tapioka komersial merk dagang Tapioka Cap Pak Tani. Bahan kimia yang digunakan etanol 50-70% teknis, buffer fosfat yang terbuat dari dinatrium hidrogen fosfat (Merck), natrium dihidrogen fosfat monohidrat (Merck) dan natrium klorida (Merck). Enzim  $\alpha$ -amilase yang berasal dari *Brevibacterium sp.* dari Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI dengan aktivitas enzim 2,12 U/mL dan enzim  $\alpha$ -amilase komersial Lyquoenzyme Supra 2.2X (Novoenzyme) dengan aktivitas 300 U/ml.

### Metode Penelitian

#### Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* dengan perlakuan perbandingan (amilase komersial dan pati alami) sebanyak tiga kali ulangan.

#### Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisis enzimatis mengikuti perlakuan yang dikembangkan oleh Kim *et al.*, (2008) dengan modifikasi. Sebanyak 1 g (berat kering) tapioka didispersikan pada larutan berisi enzim  $\alpha$ -amilase *Brevibacterium sp.* dengan rasio aktivitas enzim dan substrat sebesar 50 U/g substrat. Sampel perbandingan dilakukan menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase komersial dengan rasio aktivitas enzim dan substrat sebesar 804 U/g. Untuk mencapai rasio aktivitas enzim dan

substrat yang diinginkan ditambahkan larutan 20 mM buffer fosfat.

Pati perlakuan amilase *Brevibacterium sp.* dan perlakuan amilase komersial diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C pada kecepatan 150 rpm. Inaktivasi enzim dilakukan dengan penambahan etanol sebanyak 240 ml (perlakuan amilase komersial) dan 257,2 ml (perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.*). Pemisahan pati menggunakan metode sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Residu pati dicuci dengan menggunakan 30 ml (perlakuan amilase komersial) dan 47,2 ml (perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.*) etanol 50% sebanyak 3 kali. Pati dikeringkan menggunakan oven 40°C hingga kering.

#### Analisis Ukuran Partikel

Analisis ukuran partikel pati berpori menggunakan Particle Size Analyzer (Horiba LA-960) yang mampu mengukur ukuran partikel dengan rentang pengukuran 1 - 1.500 mikron. Mikropartikel pati sebanyak 0,25 mg dilarutkan dalam 5 ml aquades, agar larutan homogen maka dilakukan sonikasi selama 5 menit. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan kemudian dimasukkan ke dalam *holder* pada alat PSA. Sampel dianalisa pada sinar tersebar 90° dan 173°. Sinyal yang dihasilkan dihitung menggunakan fungsi autokorelasi dan diartikan sebagai distribusi ukuran partikel.

#### Analisis Derajat Adsorpsi (Penjerapan) Minyak

Analisis derajat adsorpsi minyak memodifikasi penelitian Wu *et al.* (2011) dan Majzoobi *et al.* (2015) dengan menggunakan minyak sawit dan minyak zaitun sebanyak 2,5 ml dan 0,5 g pati tapioka kering (W). Kapasitas penjerapan minyak dinyatakan sebagai persentase berat minyak yang terjerap oleh pati (WA) akibat banyaknya pori yang terdapat pada pati (rumus 1).

$$\text{Daya Jerap Minyak} = \frac{WA - W}{W} \times 100\% \quad (1)$$

### ***Analisis Morfologi***

Analisis morfologi pati alami dan setelah diberi perlakuan dilakukan untuk mengetahui dan membandingkan perubahan yang terjadi pada pati, terutama untuk melihat ada tidaknya pori setelah perlakuan. Pati alami dan perlakuan diambil beberapa bagian secara acak sebanyak 0,5 g, kemudian diratakan dan diletakkan di atas gelas preparat sehingga terbentuk lapisan tipis sampel pati. Sampel diamati secara langsung menggunakan stereo mikroskop yang dikombinasikan dengan kamera (Keyence VHX-6000 dengan lensa obyektif tipe VH-Z250R) pada perbesaran 2.000x. Untuk mendapatkan gambar dengan fokus jernih, digunakan fitur *depth composition* dan 3D pada program *Keyence communication tool* untuk mendapatkan fokus setiap ketinggian butiran-butiran pati.

### ***Analisis Fourier Transform Infra Red (FT-IR)***

Sebanyak 1 g serbuk kering pati alami dan pati perlakuan dianalisa menggunakan metode *Attenuated total reflectance* (ATR) menggunakan instrumen FTIR Perkin Elmer Two Spectrum spektrofotometer. Pemindaian dilakukan pada bilangan gelombang 400 – 4.000  $\text{cm}^{-1}$  sebanyak 16 kali scan.

### ***Analisis Warna***

Warna dinalisis dengan menggunakan Portable Color Reader Colorimeter (Konica Minolta CR-10 Plus). Sebanyak 1 g serbuk pati alami dan pati perlakuan ditempatkan pada cawan petri, kemudian dipindai dengan Portable Color Reader Colorimeter. Data yang dihasilkan berupa nilai  $L^*$  yang menunjukkan kecerahan, sedangkan nilai  $a^*$  (kemerahan) dan  $b^*$  (kekuningan). Data tersebut kemudian dikonversikan ke dalam sistem warna CIELab (Hrušková *et al.*, 2011; Bahawan *et al.*, 2019).

### ***Analisis Data***

Data yang didapatkan dianalisa varians (ANOVA) satu arah dengan alat bantu uji statistika yaitu Statistical Tool for Agricultural Research (STAR). Apabila terdapat perbedaan nyata, dilakukan uji lanjut (post-hoc) Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada selang kepercayaan 5%. Pengamatan yang dilakukan sebagai respon perlakuan rendemen pati, ukuran partikel, daya jerap minyak dan karakteristik warna. Data hasil pengamatan lainnya dianalisa secara deskriptif.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Analisis proksimat dari pati tapioka yang digunakan pada penelitian ini telah dilaporkan oleh Sondari and Iltizam (2018) yaitu kadar protein (0,035%), kadar lemak (1,16%) dan kadar amilosa (23,68%). Kadar air dan kadar abu tapioka yang digunakan pada penelitian ini (Tabel 1) telah sesuai dengan standar SNI 3451:2011 mengenai pati tapioka yaitu maksimal kadar air 14% dan maksimal kadar abu 0,5% (BSN, 2011).

### **Pengaruh Perlakuan Hidrolisis Enzimatis terhadap Karakteristik Kimia, Rendemen Pati dan Ukuran Partikel**

Kadar air tapioka berpori hasil perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* dan amilase komersial lebih rendah dibandingkan tapioka awal, namun standar SNI tapioka 3451:2011 untuk kadar air tetap terpenuhi (Tabel 1). Penurunan kadar air pati perlakuan tersebut diduga dikarenakan proses pengeringan pati setelah perlakuan pada suhu 40°C, sehingga terjadi penurunan kadar air dibandingkan dengan pati alami. Proses pengeringan akan membuat penurunan kadar air dari suatu bahan (Bahawan *et al.*, 2019).

Selain itu, perlakuan amilase baik dari *Brevibacterium sp.* dan perlakuan amilase komersial, menyebabkan granula pati

Tabel 1. Karakteristik Kimia dan Ukuran Pati

Parameter	Tapioka Alami	Tapioka Perlakuan	
		amilase dari <i>Brevibacterium sp.</i>	amilase komersial
Kadar Air (%)	13,56*	6,80 ± 0,11	9,33 ± 0,28
Kadar Abu (%)	0,18*	0,13 ± 0,10	0,98 ± 0,07
Rendemen Pati (%)	-	74,65 ± 0,02 <sup>a</sup>	12,75 ± 0,04 <sup>b</sup>
Ukuran Partikel (µm)	14,91 ± 0,03 <sup>a</sup>	14,60 ± 0,03 <sup>b</sup>	12,59 ± 0,01 <sup>c</sup>

Keterangan :

<sup>1)</sup> \* Sondari and Iltizam (2018) ,<sup>2)</sup> Rerata yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada Uji DMRT taraf 5%

lebih berpori, porous dan lebih luas permukaannya sehingga memudahkan air terlepas pada saat pengovenan. Perubahan granula sebagai efek perlakuan enzimatis tercermin pada gambar 2.B dan 2.C. Perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* diduga memiliki efek yang lebih tinggi dari perlakuan amilase komersial karena kadar air perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan amilase komersial.

Perlakuan amilase komersial memiliki kadar abu lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* dan pati alami (Tabel 1). Peningkatan kadar abu dapat disebabkan karena penggunaan buffer fosfat ketika proses hidrolisis enzimatis sehingga terjadi penitrasi buffer fosfat ke bagian dalam granula pati. Semakin banyak gugus fosfat yang terikat akan menyebabkan kadar abu meningkat. Pada pati hasil perlakuan amilase komersial lebih banyak menghasilkan gugus hidroksil bebas akibat terjadinya pemutusan rantai cabang amilopektin sehingga membuat gugus fosfat berikatan dengan gugus hidroksil bebas pada rantai pati (Wulan *et al.*, 2007).

Pada hasil rendemen pati (Tabel 1), uji lanjut DMRT 5% menunjukkan bahwa rendemen perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* secara nyata memberikan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan amilase komersial. Mekanisme kerja  $\alpha$ -amilase terdiri dari dua tahap yaitu: degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltoriosa secara acak dan sangat cepat

ditandai dengan penurunan viskositas.

Tahap selanjutnya proses relatif sangat lambat yang menghasilkan glukosa dan maltosa secara acak (Kim *et al.*, 2008; Romadona, 2012). Cepat lambatnya sebuah proses likuifikasi ditentukan oleh aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan diperlukan waktu yang lebih lama apabila proses likuifikasi dilakukan tanpa gelatinisasi terlebih dahulu. Likuifikasi pada suhu gelatinisasi akan membuat pati mengembang dan rusak sehingga pati dapat terlarut ditunjukkan dengan viskositas larutan yang turun (Romadona, 2012; Ratna and Yulistiani, 2015). Pada proses hidrolisis menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase terjadi pengurangan viskositas secara cepat (Kim *et al.*, 2008; Qian *et al.*, 2011; Ratna and Yulistiani, 2015). Rasio aktivitas enzim dan substrat pada perlakuan amilase komersial (Lyquoenzyme) lebih tinggi dibandingkan perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.*, sehingga efek enzim pada perlakuan amilase komersial lebih cepat dan lebih besar. Proses likuifikasinya menghasilkan lebih banyak pati rusak dan terlarut, sehingga rendemen pati yang dihasilkan lebih rendah.

Ukuran partikel pati perlakuan amilase cenderung lebih kecil dibandingkan dengan pati alami yang besar penurunannya tergantung sumber amilase (Tabel 1). Kecenderungan ukuran partikel pati yang mengecil sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lecorre *et al.*, (2012) dan Kim *et al.*, (2008) yang menggunakan pati jagung dan pati beras. Ukuran partikel

pada perlakuan amilase komersial lebih kecil dibandingkan perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.*, hal ini erat hubungannya dengan rasio aktivitas enzim dan substrat pada perlakuan amilase komersial yang lebih tinggi sehingga membuat ukuran granulanya menjadi lebih kecil.

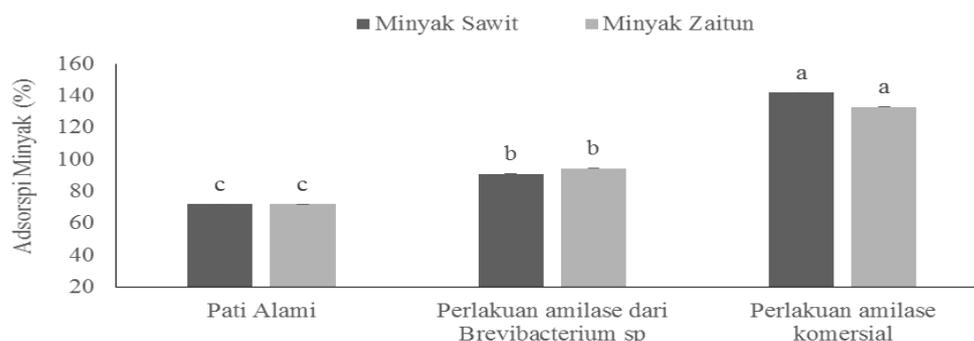
Secara prinsip enzim  $\alpha$ -amilase menghidrolisis granula dari bagian lapisan terluar, sehingga membuat ukuran granula menjadi lebih kecil namun tanpa menciptakan banyak porositas (Lecorre *et al.*, 2012). Kim *et al.*, (2008) menjelaskan tingkat hidrolisis enzimatis dengan waktu yang tepat akan dapat mengurangi ukuran partikel, tapi hidrolisis yang berlebihan (lebih dari 24 jam) dapat meningkatkan ukuran partikel pati dikarenakan beberapa butiran pati yang berada pada ukuran terkecil akan mengalami agregasi fragmentasi atau terkikis.

### Pengaruh Perlakuan Hidrolisis Enzimatis terhadap Kemampuan Adsorpsi (Penjerapan) Minyak

Prinsip pembuatan pati berpori mikro dengan hidrolisis enzimatis secara parsial di bawah suhu gelatinisasi akan menurunkan biaya kebutuhan energi dan meningkatkan kemampuan pati untuk dijadikan penjerap minyak. Salah satu cara untuk menunjukkan efektifitas adsorpsinya, derajat adsorpsi minyak diujikan ke pati berpori tersebut (Qian *et al.*, 2011; Majzoobi *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2018).

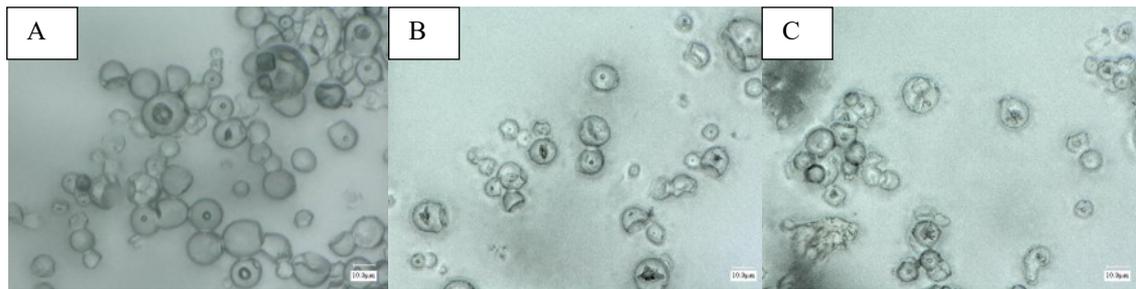
Hasil penelitian menunjukkan kemampuan adsorpsi pati berpori yang dihasilkan perlakuan amilase komersial tertinggi ( $p < 0,05$ ) yaitu diatas 100%, baik menggunakan minyak sawit dan minyak zaitun (Gambar 1). Hal ini berkaitan dengan banyaknya pori yang terbentuk dan meningkatnya luas permukaan pori sehingga minyak yang terjerap di pori semakin banyak. Demikian pula pati berpori perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* walaupun lebih rendah dari perlakuan amilase komersial namun daya adsorpsi minyaknya mendekati 100% , lebih baik dari kontrol (pati alami).

Penelitian sebelumnya menunjukkan penggunaan enzim  $\alpha$ -amilase dalam pembuatan pati berpori menghasilkan kemampuan adsorpsi minyak biji bunga matahari pada pati jagung berpori sebesar 43,3% dari sebelumnya 3% yang dilaporkan oleh Lecorre *et al.*, (2012), sedangkan Majzoobi *et al.* (2015) melaporkan kemampuan adsorpsi minyak biji bunga matahari pada pati gandum berpori sebesar 16,13% dari sebelumnya 1,28%. Penelitian Wu *et al.*, (2011) memperlihatkan pati jagung berpori yang dihasilkan enzim glukoamilase memiliki kemampuan adsorpsi minyak yang lebih dari 100%. Berat jenis minyak sawit dan minyak zaitun dapat disetarakan dengan minyak biji bunga matahari. Oleh karena itu, pati berpori dari tapioka yang dihasilkan pada penelitian ini cukup berprospek untuk dijadikan agen penjerap minyak, karena kemampuan adsorpsi minyak yang cukup tinggi.



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

Gambar 1. Kemampuan Adsorpsi Minyak Pati Berpori Mikro



Gambar 2. Penampakan Morfologi Pati Perbesaran 2000 x (A. Pati Alami; B. Pati Perlakuan Amilase dari *Brevibacterium* sp.; C. Pati Perlakuan Amilase Komersial)

### Analisis Morfologi Pati Berpori

Bentuk granula pati tapioka alami adalah bulat dan permukaannya halus (Gambar 2.A). Bentuk granula pati tapioka bulat dan terletak di dalam sel umbi dengan ukuran 5-35 mikron serta memiliki sifat ganda-bias (*birefringence*) yang tinggi sehingga menghasilkan warna hitam-putih (Ridwansyah *et al.*, 2010; Kustyawati *et al.*, 2013). Pada gambar 2.B dan 2.C terlihat pengaruh perlakuan enzimatis membuat granula menjadi lebih berpori ditengahnya dan permukaan sekelilingnya lebih rusak dan kasar dibandingkan pati alami. Selain itu, terlihat bagian tepi pada pati perlakuan memiliki saluran pada permukaan granulanya. Secara prinsip enzim  $\alpha$ -amilase menghasilkan beberapa pori pada granula pati namun tidak tergantung pada ukuran granulanya (Dura *et al.*, 2014; Majzobi *et al.*, 2015). Kustyawati *et al.* (2013) menjelaskan bahwa granula yang kehilangan sifat ganda-biasnya (*birefringence*) akan hancur dan tidak berbentuk lagi, karena enzim  $\alpha$ -amilase yang melakukan amilolisis akan membuat erosi pada permukaan granula sehingga sifat kelarutannya tinggi. Pada gambar 2B dan 2C terlihat beberapa granula saling menempel. Hal ini akibat efek beberapa amilosa yang terlarut ke bagian luar granula dan mengkristal setelah terjadi pendinginan sehingga menghasilkan struktur seperti jeli dan berperan sebagai bahan pengelem antar granula (Dura *et al.*, 2014).

Jika dihubungkan dengan kemampuan penjerap minyak dan ukuran partikel pati, permukaan dari pati berpori perlakuan

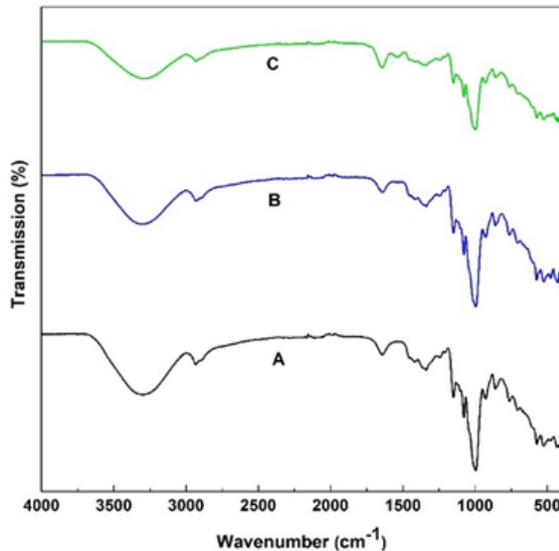
amilase komersial seharusnya lebih banyak tererosi dan memiliki banyak saluran-saluran pada permukaannya dibandingkan pati berpori perlakuan amilase dari *Brevibacterium* sp. Namun pada penampakan morfologi di antara perlakuan amilase dari *Brevibacterium* sp. dan perlakuan amilase komersial tidak terlihat secara jelas perbedaannya. Walaupun demikian, morfologi tersebut menunjukkan adanya pori pada permukaan granula dan rongga yang besar pada granula pati yang dihasilkan, yang akan berpengaruh terhadap area permukaan spesifik yang besar. Dapat disimpulkan bahwa pati berpori yang dihasilkan memiliki kapasitas adsorpsi yang baik dan dapat digunakan sebagai adsorben dalam berbagai aplikasi salah satunya sebagai penjerap minyak.

### Analisis Fourier Transform Infra Red (FT-IR)

Spektra infra merah dari pati tapioka alami dan perlakuan amilase dari *Brevibacterium* sp. dan perlakuan amilase komersial ditunjukkan pada Gambar 3. Pola spektra menunjukkan tidak adanya perubahan yang signifikan pada tiap-tiap sampel (Sun *et al.*, 2014b).

Hal ini menandakan bahwa perlakuan enzimatis (Gambar 3.B dan 3.C) tidak menyebabkan perubahan struktur molekul dari pati, sehingga gugus fungsi pati berpori mirip dengan pati tapioka asli. Hasil penelitian ini seperti yang dilaporkan oleh Zhang *et al.*, (2012) yang menggunakan pati jagung. Spektra FTIR menunjukkan adanya puncak pada daerah panjang ge-

lombang  $3600 - 3200 \text{ cm}^{-1}$  yang merupakan daerah ulur gugus  $-\text{OH}$ . Pita di daerah  $2900 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi  $-\text{CH}_2$  yang berhubungan dengan metilen pada polisakarida.



Gambar 3. Spektra FTIR dari Pati Tapioka (A. Pati Alami; B. Pati Perlakuan Amilase dari *Brevibacterium sp.*; C. Pati Perlakuan Amilase Komersial)

Serapan di daerah panjang gelombang sekitar  $1600 - 1590 \text{ cm}^{-1}$  dan  $1400 \text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus karboksilat ( $\text{COO}^-$ ). Pada spektra pita  $3600 - 3200 \text{ cm}^{-1}$  terlihat puncak yang tajam, hal ini menunjukan lemahnya interaksi antar gugus hidroksil yang disebabkan gangguan pada struktur kristal pati (Sun *et al.*, 2014a).

Namun, intensitas spektra semakin menurun dengan adanya perlakuan, dapat dilihat intensitas spektra C (perlakuan ami-

lase komersial) lebih rendah dibandingkan B (perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.*). Tingginya puncak dipengaruhi oleh kuat lemahnya interaksi, semakin rendah intensitas semakin kuat interaksi yang terjadi (Ma *et al.*, 2007).

Zhang *et al.* (2012) menyatakan interaksi yang semakin kuat terjadi karena bertambahnya jumlah pori pada granula pati. Aktivitas enzim yang lebih besar akan lebih efektif mempengaruhi jumlah pori pada granula pati. Banyaknya pori pada pati ini yang memungkinkan hubungannya dengan sifat adsorpsi pati terhadap minyak. Hal ini sejalan dengan data kemampuan adsorpsi minyak (Gambar 2) yang menunjukkan hasil perlakuan amilase komersial lebih tinggi daripada perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.*

### Analisis Warna

Nilai  $L^*$  menunjukkan kecerahan, sedangkan nilai  $a^*$  (kemerahan) dan  $b^*$  (kekuningan) menunjukkan nilai positif dengan tingkat kemerahan dan kekuningan tertentu.

Semakin kecilnya nilai  $L^*$  dan  $a^*$  diduga memiliki kadar amilosa yang tinggi (Avaro *et al.*, 2011). Pati alami memiliki nilai  $a^*$  negatif menandakan bahwa warnanya cenderung kehijauan dibandingkan dengan pati perlakuan yang bernilai positif. Perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* memiliki nilai  $L^*$  lebih tinggi dibandingkan perlakuan amilase komersial (Tabel 2), hal ini sejalan dengan kadar air (Tabel 1) dengan nilai  $L^*$  dan  $a^*$  yang dapat diduga kadar amilosa perlakuan A lebih tinggi dibandingkan perlakuan B.

Tabel 2. Karakteristik Warna

Jenis Pati	Karakteristik Warna				
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Hue $^\circ$	Chroma
Pati Alami	43,97 <sup>a</sup>	-0,03 <sup>b</sup>	0,53 <sup>a</sup>	N/A	0,80
Perlakuan amilase dari <i>Brevibacterium sp.</i>	58,33 <sup>a</sup>	0,43 <sup>ab</sup>	3,10 <sup>a</sup>	80,82	3,13
Perlakuan amilase komersial	58,83 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	5,93 <sup>a</sup>	77,53	6,09

Nilai Hue yang berkisar antara 77-88° masuk ke daerah kisaran warna kuning merah. Semakin besar nilai chroma menunjukkan semakin cerah suatu objek. Oleh karena itu, walaupun secara kasat mata tidak ada perbedaan warna pati dari kedua perlakuan dan kontrol, ternyata pati dengan perlakuan amilase komersial sedikit lebih terang dan cerah dibandingkan perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* dan pati alami. Walaupun demikian, perbedaan warna ini tidaklah berbeda nyata berdasarkan uji sidik ragam pada tingkat kepercayaan 95% kecuali untuk nilai  $a^*$  dari masing-masing perlakuan. Hasil uji lanjut menunjukkan juga bahwa nilai  $a^*$  pada perlakuan amilase komersial memiliki nilai tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan amilase dari *Brevibacterium sp.* maupun pati alami.

### KESIMPULAN

Pengujian ukuran partikel, morfologi, FTIR dan uji kemampuan penjerap minyak pati berpori mikro yang dihasilkan melalui hidrolisis enzimatis enzim  $\alpha$ -amilase komersial (Lyquoenzyme) cenderung lebih baik, namun pati berpori mikro dari hidrolisis enzim  $\alpha$ -amilase yang berasal dari mikroba laut Indonesia yaitu *Brevibacterium sp.* cukup kompetitif untuk mensubstitusi pati berpori hasil enzim  $\alpha$ -amilase komersial, dan berprospek dijadikan agen penjerap minyak.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas bantuan dana penelitian melalui Program INSINAS Tahun Anggaran 2019 no. kontrak 053/P/RPL-LIPI/INSINAS-1/IV/2019, Laboratorium Bioproduk Terintegrasi (iLaB) Pusat Penelitian Biomaterial LIPI atas bantuan fasilitas alat karakterisasi pendukung penelitian (mikroskop stereo Keyence dan FTIR Perkin Elmer).

### DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, R., N. Shaheen, M. Iqtedar, S. Naz, and T. Iftikhar. 2014. Optimization of cultural conditions for the production of alpha amylase by *Aspergillus Niger* (BTM-26) in solid state fermentation. *Pakistan J. Bot.* 46(3):1071–1078.
- Alila, S., F. Aloulou, W. Thielemans, and S. Boufi. 2011. Sorption potential of modified nanocrystals for the removal of aromatic organic pollutant from aqueous solution. *Ind Crops Prod.* 33(2):350–357.
- Avaro, M.R.A., Z. Pan, T. Yoshida, and Y. Wada. 2011. Two alternative methods to predict amylose content of rice grain by using tristimulus CIE lab values and developing a specific color board of starch-iodine complex solution. *Plant Prod. Sci.* 14(2):164–168.
- Bahanawan, A., S.S. Kusumah, T. Darmawan, Ismadi, N. Masruchin, Sudarmanto, Jayadi, D.A. Pramasari, D. Triwibowo, W.B. Kusumaningrum, E.S. Wibowo, F.A. Syamani, N.P.R.A. Krishanti, E. Lestari, Y. Amin, S. Sufiandi, A. Syahrir, and W. Dwianto. 2019. Moisture content, color quantification and starch content of oil palm trunk (*Elaeis guineensis* Jacq.). The 8th International Symposium for Sustainable Humanosphere. November 2019. Bogor.
- Dura, A., W. Błaszczak, and C.M. Rosell. 2014. Functionality of porous starch obtained by amylase or amyloglucosidase treatments. *Carbohydr. Polym.* 101(1):837–845.
- Hrušková, M., I. Švec, and H. Sekerová. 2011. Colour analysis and discrimination of laboratory prepared pasta by means of spectroscopic methods. *Czech J. Food Sci.* 29(4):346–353.
- Kim, J.Y., D.J. Park, and S.T. Lim. 2008. Fragmentation of waxy rice starch

- granules by enzymatic hydrolysis. *Cereal Chem.* 85(2):182–187.
- Kustyawati, M.E., M. Sari, dan T. Haryati. 2013. Efek fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap karakteristik biokimia tapioka. *Agritech J.* 33(3):281–287.
- Lecorre, D., E. Vahanian, A. Dufresne, and J. Bras. 2012. Enzymatic pretreatment for preparing starch nanocrystals. *Biomacromolecules.* 13(1):132–137.
- Liu, L., W. Shen, W. Zhang, F. Li, and Z. Zhu. 2018. Porous starch and its applications. In Jin, Z. (eds). *Functional Starch and Applications in Food.* Springer Nature Singapore. Singapore. pp 91-117.
- Ma, X., J. Yu, K. He, and N. Wang. 2007. The effects of different plasticizers on the properties of thermoplastic starch as solid polymer electrolytes. *Macromol. Mater. Eng.* 292(4):503–510.
- Majzoobi, M., S. Hedayati, and A. Farahnaky. 2015. Functional properties of microporous wheat starch produced by  $\alpha$ -amylase and sonication. *Food Biosci.* 11:79–84.
- Nasional, B.S. 2011. SNI 3451:2011. Jakarta.
- Purnawan, A., Y. Capriyanti, P. Kurniatin, and N. Rahmani. 2015. Optimasi produksi enzim amilase dari bakteri laut Jakarta (*Arthrobacter arilaitensis*). *Indones. J. Biol.* 11(2):215–224.
- Qian, J., X. Chen, X. Ying, and B. Lv. 2011. Optimisation of porous starch preparation by ultrasonic pretreatment followed by enzymatic hydrolysis. *Int. J. Food Sci. Technol.* 46:179–185.
- Rahmani, N., A. Andriani, and A. Prima. 2011. Production and characterization of amylase enzyme from marine bacteria. *Proc. 2nd Int. Semin. Chem.* November 2011. Jatinangor.
- Ratna, A., dan F. Yulistiani. 2015. Pembuatan gula cair dari pati singkong dengan menggunakan hidrolisis enzimatis. *J. Fluida.* 11(2):9–14.
- Ridwansyah, Z.M. Nasution, T.C. Sunarti, dan A.M. Fauzi. 2010. Karakteristik sifat fisiko-kimia pati kelapa sawit. *J. Tek.Ind.Pert.* 17(1):1–6.
- Romadona, D.N. 2012. Hidrolisis pati palma menggunakan  $\alpha$ -amilase (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Simair, A.A., A.S. Qureshi, I. Khushk, C.H. Ali, S. Lashari, M.A. Bhutto, G.S. Mangrio, and C. Lu. 2017. Production and partial characterization of  $\alpha$ -amylase enzyme from *Bacillus* sp. BCC 01-50 and potential applications. *Biomed Res Int.* 2017:1-9.
- Sondari, D., and I. Iltizam. 2018. Effect of hydrogen peroxide on edible film from cassava starch. *AIP Conf. Proceedings.* October 2018. Jakarta.
- Sun, Q., H. Fan, and L. Xiong. 2014a. Preparation and characterization of starch nanoparticles through ultrasonic-assisted oxidation methods. *Carbohydr. Polym.* 106(1):359–364.
- Sun, Q., G. Li, L. Dai, N. Ji, and L. Xiong. 2014b. Green preparation and characterisation of waxy maize starch nanoparticles through enzymolysis and recrystallisation. *Food Chem.* 162:223–228.
- Syamsir, E., P. Hariyadi, dan D. Fardiat. 2009. Karakteristik tapioka. *J. Agrotek.* 5(1):93–105.
- Wu, Y., X. Du, H. Ge, and Z. Lv. 2011. Preparation of microporous starch by glucoamylase and ultrasound. *Starch/Staerke J.* 63(4):217–225.
- Wulan, S.N., T.D. Widyaningsih, dan D. Ekasari. 2007. Modifikasi pati alami dan pati hasil pemutusan rantai cabang dengan perlakuan fisik/kimia untuk meningkatkan kadar pati resisten pada pati beras. *J. Teknol. Pertan.* 8(2):80–87.
- Zhang, B., D. Cui, M. Liu, H. Gong, Y. Huang, and F. Han. 2012. Corn porous starch : Preparation, characterization and adsorption property. *Int. J. Biol. Macromol.* 50(1):250–256.