

POTENSI ENZIM α -AMILASE DARI *Bacillus Sp.* (TERMAMYL®) UNTUK PEMROSESAN TEPUNG SORGUM

Muhammad Fadhilillah^{a,b}, Soetijoso Soemitro^b & Toto Subroto^{b,*}

^aProgram Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan, Jln. Dr. Setiabudi No. 193, Bandung, 40153

^bDepartemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jln. Raya Bandung Sumedang km. 21, Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat 45363

*Alamat Korespondensi: t.subroto@unpad.ac.id

Abstrak: Tepung sorghum merupakan salah satu sumber karbohidrat non gluten yang dapat digunakan sebagai pengganti gandum. Sayangnya, makanan berbahan dasar sorghum seperti roti sorghum memiliki kecenderungan penurunan kualitas tekstur lebih cepat selama penyimpanan. α -Amilase rutin digunakan dalam pembuatan roti gandum sebagai *antifirming* untuk menghasilkan kualitas yang lebih baik. Pada penelitian ini dilakukan penentuan karakter enzim α -amilase komersial (Termamyl®) serta menentukan potensinya untuk digunakan dalam pemrosesan tepung sorghum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Termamyl® memiliki kemampuan untuk memecah pati mentah. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa tepung sorghum yang diberi perlakuan Termamyl® mengubah bentuk granula pati sorghum dan juga mengurangi kandungan amilosa sebesar 27%.

Kata kunci: sorghum, α -amilase, tepung

Abstract: *Sorghum flour is one of non glutenous carbohydrate source that can be used as wheat flour substitute. Unfortunately, food using sorghum as basic ingredients such as sorghum bread tend to have higher textural quality reduction rate during storage. α -Amylase is commonly used in breadmaking using wheat flour as antifirming agent to give better quality. In the present study, we characterized commercial α -amylase (Termamyl®) and determined its potency for sorghum flour processing. The results of the present study indicate that Termamyl® has ability to degrade raw starch. Further study indicated that sorghum flour treated with Termamyl® shown changes in granular shape and reduced 27% of amylase content compared to untreated sorghum flour.*

Keywords: *sorghum, α -amylase, flour*

PENDAHULUAN

Efek dari pengembangan industri pangan menyebabkan peningkatan kebutuhan terigu sehingga mengakibatkan peningkatan laju impor gandum yang akhirnya meningkatkan pula pengeluaran devisa negara. Di sektor industri pangan, rerata kebutuhan terigu perusahaan roti dan kue kering di Indonesia mencapai 1,38 juta ton/tahun, sedangkan untuk memenuhi kebutuhan mi dibutuhkan sekira 2,3 juta ton/tahun (Antara, 2010). Selain itu, kini semakin banyak tuntutan mengenai makanan yang bebas gluten (protein gandum) dari masyarakat, khususnya di negara-negara maju, yang menderita *coeliac disease* dan penyakit lainnya yang berhubungan dengan intoleransi terhadap gandum karena tidak dapat makan produk makanan yang terbuat dari gandum, *barley* ataupun *rye* (Taylor *et al.*, 2006). Suatu alternatif yang dapat dilakukan yaitu memanfaatkan bahan pangan nonberas lain yang dapat digunakan sebagai substitusi tepung gandum (terigu), seperti sorghum (Ahza, 1998).

Sorghum sering direkomendasikan sebagai bahan pangan yang aman bagi pasien yang alergi terhadap gandum. Namun, makanan yang berbahan dasar sorghum memiliki kecenderungan kehilangan kualitas tekstur lebih cepat ketika penyimpanan. (Matalanis *et al.*, 2009). Selain itu, penggunaan tepung sorghum di

industri terbatas karena sifat-sifat fungsionalnya yang kurang memenuhi kebutuhan industri, misalnya mengalami retrogradasi pada penyimpanan dengan suhu rendah. Modifikasi secara fisika, kimia maupun enzimatik, sifat-sifat fungsional tepung sorghum dapat ditingkatkan dan memungkinkan aplikasinya di berbagai bidang (Moore *et al.*, 2005). Modifikasi digunakan agar produk tepung sorghum lebih stabil dalam pemrosesan di industri makanan. Tepung termodifikasi memiliki sifat-sifat fungsional lebih besar dalam skala produksi makanan dari pada tepung asalnya. Hidrolisis pati merupakan cara mudah dalam memodifikasi pati untuk menghasilkan karbohidrat dengan sifat fungsional khusus. Hasilnya dapat berupa hidrolisat pati, sirup glukosa, sirup fruktosa, dan turunan pati lainnya seperti maltodekstrin serta siklodekstrin (van der Maarel *et al.*, 2002). Untuk meningkatkan pemanfaatan dan fungsionalitas karbohidrat sorghum, penelitian ini bertujuan untuk tepung memodifikasi tepung sorghum secara enzimatik dengan penambahan α -amilase termofilik.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Tepung sorghum berukuran 100 mesh berasal dari biji sorghum ZH30 yang dikembangkan oleh Fakultas

Pertanian Universitas Padjadjaran. α -Amilase termofilik (Termamyl[®]) dari *Bacillus sp.* (Bamyfil) dengan aktivitas 4,0 U/g tepung yang diproduksi oleh Novozyme, diperoleh dari Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran.

Analisis proksimat (AOAC, 1995)

Kadar protein ditentukan melalui penentuan kadar nitrogen dengan metode mikro Kjeldahl yang kemudian dikalikan dengan angka konversi (6,25) sedangkan kadar lemak ditentukan melalui ekstraksi soxhlet.

Kandungan amilosa (Ansharullah, 1997)

Kandungan amilosa ditentukan sesuai dengan Ansharullah (1997) dengan mereaksikan tepung sorgum dengan larutan iodin (I₂ 0,2% dalam larutan KI 2%). Serapannya diukur pada panjang gelombang 600 nm. Angka serapan dimasukkan ke dalam kurva baku amilosa standar untuk mengetahui besarnya konsentrasi amilosa pada sampel.

Aktivitas α -amilase (metode Fuwa, 1954)

Sebanyak 100 μ L enzim ditambah dengan 100 μ L pati terlarut 0,1% (b/v). Kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 100 μ L asam klorida 1 N. Kemudian ditambahkan 100 μ L larutan iodin dan diencerkan sampai 2 mL. Absorbansinya (A) diukur dengan spektrofotometer pada λ 600 nm. Satu unit/mL aktivitas α -amilase adalah jumlah α -amilase yang menyebabkan penurunan intensitas warna biru kompleks iodin-amilosa sebesar 10% pada kondisi uji. Perhitungan aktivitas α -amilase:

$$\text{Aktivitas (Unit/mL)} = \frac{A_k - A_s}{A_k} \times f_p \times \frac{1}{V_e} \times 10$$

Keterangan :

A_k = absorbansi kontrol

A_s = absorbansi sampel

f_p = faktor pengenceran

V_e = volume enzim yang diuji (mL)

Angka 10 berasal dari definisi jumlah amilase yang menyebabkan penurunan intensitas warna biru iod-amilosa sebesar 10% pada kondisi uji

Pengukuran gula pereduksi (metode Nelson [1944]-Somogyi [1952])

Sampel sebanyak 0,20 mL dalam tabung reaksi ditambahkan 0,50 mL pereaksi (Cu alkalis). Campuran dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit, kemudian didinginkan. Larutan campuran tersebut ditambahkan 3,00 mL pereaksi arsenomolibdat. Absorbansi campuran larutan diukur

menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Metode yang sama digunakan untuk membuat kurva baku larutan maltosa dengan beberapa konsentrasi. Data absorbansi sampel diplotkan ke dalam persamaan kurva baku untuk memperoleh konsentrasi gula pereduksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi α -Amilase termofilik (Bamyfil)

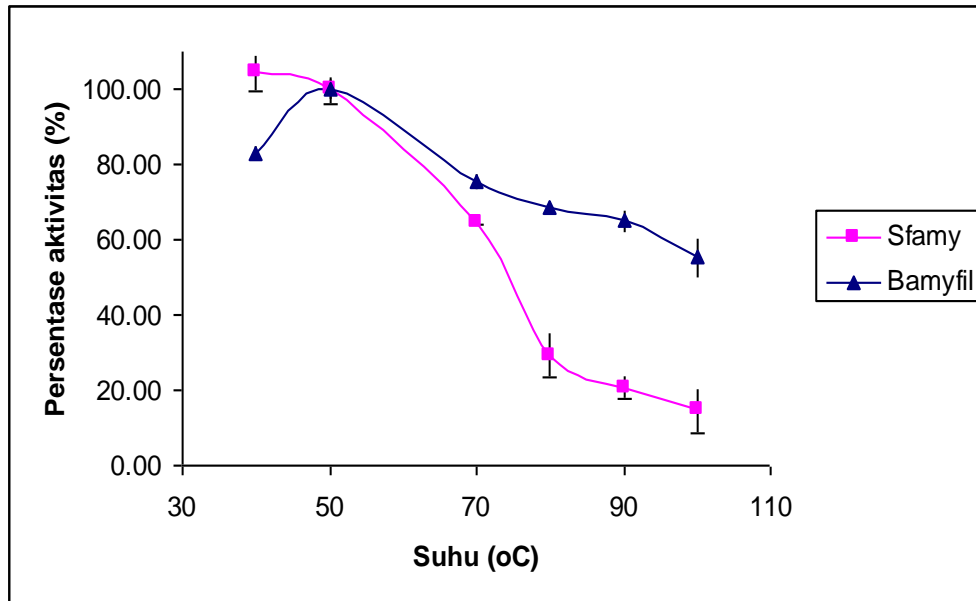
Dalam tepung, amilase endogen jumlahnya terbatas. Dengan demikian secara rutin dilakukan penambahan α -amilase dari sumber luar, khususnya bagi standardisasi tepung dan sebagai *antistaling*. Jenis amilase yang umum digunakan sebagai *antistaling* yaitu α -amilase yang berasal dari bakteri, fungi atau ragi yang memiliki termostabilitas intermediet dan diperuntukkan untuk makanan (*food-borne*).

Bamyfil yang digunakan dalam penelitian ini memiliki termostabilitas yang cukup tinggi karena masih memiliki kemampuan hidrolisis di atas suhu 70°C (Gambar 1) namun demikian Bamyfil mempunyai aktivitas optimum pada suhu 50°C. Pada suhu 100°C aktivitas Bamyfil yang tersisa sebesar 60%. Berbeda dengan aktivitas α -amilase yang berasal dari ragi *Saccharomycopsis fibuligera* (Sfamy), pada suhu 100°C aktivitas yang tersisa kurang dari 20%.

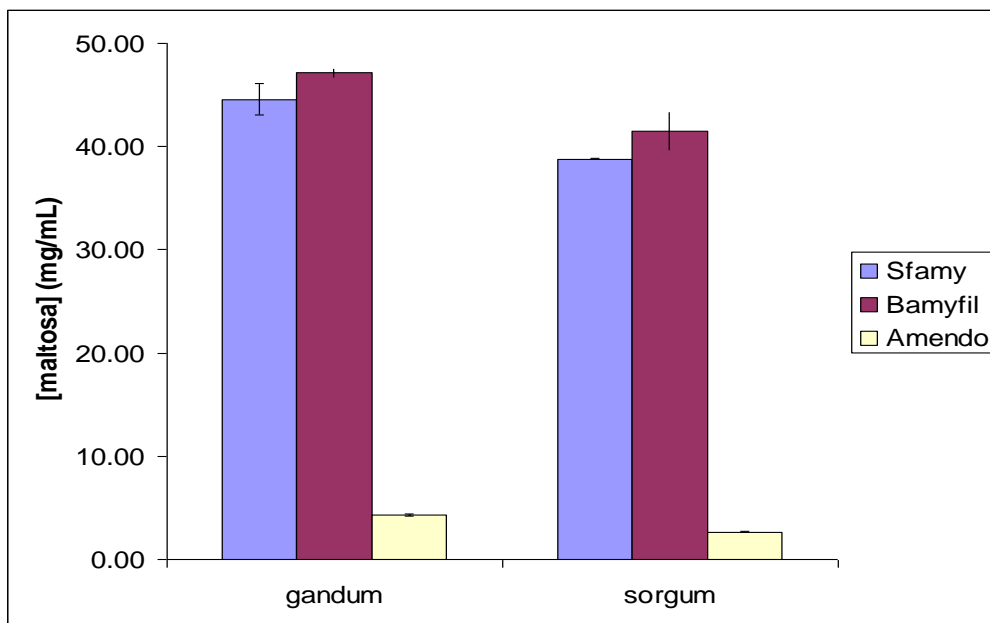
Selain bersifat termostabil, Bamyfil juga mampu memecah tepung mentah khususnya tepung gandum dan tepung sorgum. Kemampuan memecah tepung mentah oleh Bamyfil merupakan nilai lebih karena untuk beberapa amilase diperlukan proses gelatinasi pati terlebih dahulu agar proses hidrolisis dapat terjadi. Proses gelatinasi membutuhkan suhu yang tinggi. Bagi industri, penggunaan suhu tinggi berkaitan dengan diperlukannya energi yang lebih besar sehingga akan meningkatkan biaya produksi.

Kemampuan Bamyfil dalam memecah tepung mentah ditentukan metode Nelson-Somogyi berupa pengukuran konsentrasi maltosa dalam mg/mL. Hasan *et al.* (2008) dan Soemitro (2005) melaporkan bahwa Sfamy memiliki kemampuan memecah pati mentah sehingga tidak diperlukan proses gelatinasi agar hidrolisis dapat terjadi. Pada penelitian ini, selain Sfamy, ternyata baik Bamyfil maupun Amendo juga mampu memecah tepung mentah (Gambar 2). Kemampuan Bamyfil memecah tepung mentah diperkirakan akan mempengaruhi proses pemotongan rantai-rantai amilosa dan amilopektin dalam granula pati.

Dengan adanya sifat termostabilitas yang tinggi serta kemampuan memecah pati mentah dari Bamyfil tersebut memungkinkan proses hidrolisis terjadi sejak awal penambahan Bamyfil ke dalam tepung dan pada saat proses pemanasan.



Gambar 1 Pengaruh suhu terhadap aktivitas Sfamy dan Bamyfil.

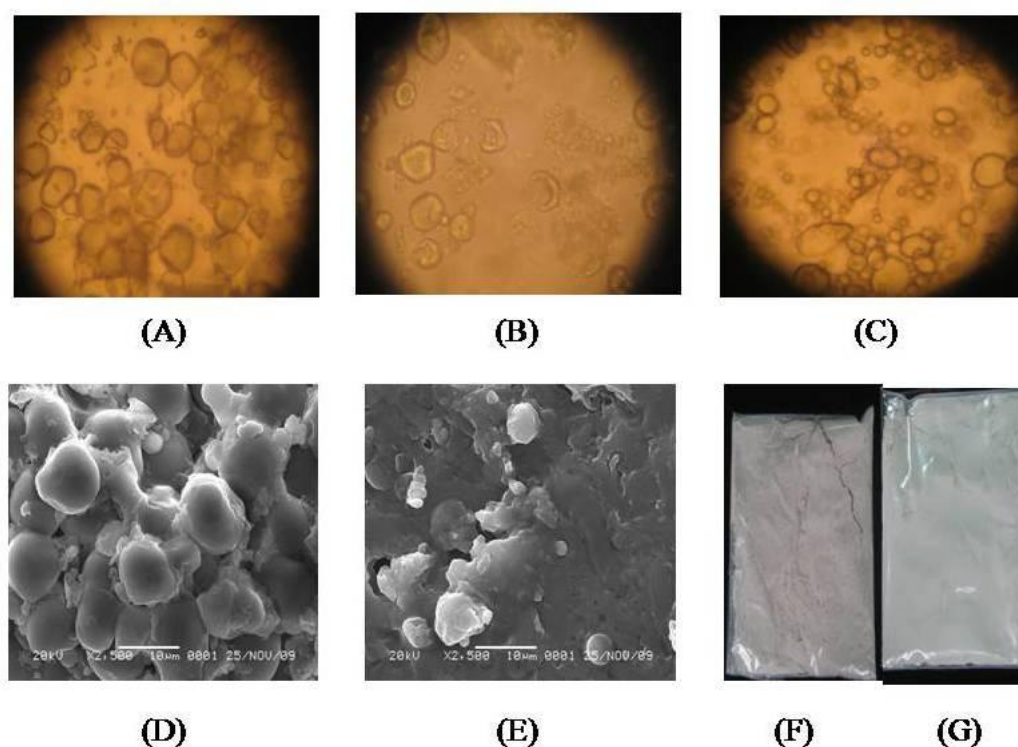


Gambar 2 Kemampuan berbagai α -amilase dalam menghidrolisis tepung mentah. Sfamy merupakan α -amilase dari *Saccharomycopsis fibuligera*, Bamyfil merupakan α -amilase termofilik dari *Bacillus*, Amendo merupakan α -amilase endogen yang sudah ada pada tepung gandum dan sorgum.

Hidrolisis parsial tepung sorgum

Sorgum varietas ZH30 memiliki kandungan tannin rendah sehingga termasuk ke dalam golongan *white sorgum*. Bila dilihat dengan mikroskop cahaya, granul pati sorgum mirip dengan granul pati jagung memiliki bentuk *spherical* (Tester *et al.*, 2006) (Gambar 3A) sedangkan sebagai perbandingan granul tepung gandum memiliki bentuk oval (Gambar 3C).

Dengan penambahan α -amilase termofilik (Bamyfil 4,0 U/g tepung) terlihat pecahan granul tepung sorgum yang terhidrolisis (Gambar 3B). Pencitraan mikroskop elektron (*scanning electron microscope/SEM*) (Gambar 3D & E) memperlihatkan lebih jelas pengaruh penambahan Bamyfil yang mengubah keseluruhan bentuk granul pati sorgum. Proses hidrolisis oleh Bamyfil menyebabkan granul pati



Gambar 3 Granul pati sorgum dalam tepung sorgum sebelum dan setelah penambahan Bamyfil. Pencitraan dengan mikroskop cahaya granul pati gandum (A), granul pati sorgum terhidrolisis (B) granul pati gandum (C). Pencitraan dengan SEM pada granul pati sorgum (D) granul pati sorgum terhidrolisis (E). Tampakkan tepung sorgum (F) dan tepung gandum (G). Granul pati sorgum terhidrolisis tidak lagi utuh.

sorghum tidak lagi utuh (Gambar 3E). Dibandingkan dengan tepung gandum (Gambar 3G), tepung sorgum memiliki warna tepung yang agak kemerahan karena adanya kandungan antosianin (Gambar 3F).

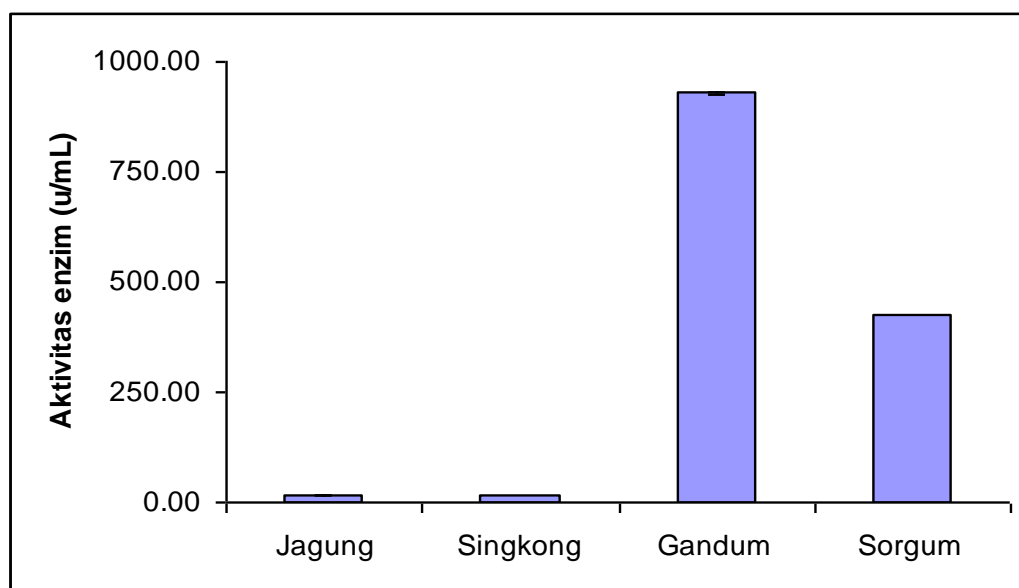
Tepung merupakan komponen utama dalam pembuatan roti yang sebagian besar terdiri dari protein, lipid dan pati yang tersusun atas amilosa dan amilopektin. Dalam penelitian ini penentuan pati dilakukan melalui penentuan kadar amilosa dengan metode kolorimetri (dijelaskan dalam bab bahan dan metode penelitian). Hasil analisis proksimat terhadap konstituen tepung sorgum ditunjukkan Tabel 1. Penambahan Bamyfil menurunkan kandungan amilosa secara signifikan (27%). Hidrolisis oleh Bamyfil menyebabkan amilosa pecah sehingga tidak mampu membentuk kompleks dengan reagen iodin. Penambahan α -amilase termofilik juga menurunkan kandungan amilopektin (Lagrain *et al.*, 2008), dengan demikian secara keseluruhan menurunkan kandungan pati. Tepung sorgum mengandung amilosa yang tinggi (39,10%), jauh lebih tinggi dari kandungan amilosa yang dilaporkan Chanapamokkhot & Thongngam (2007) sebesar 25-27%. Menurut Singh *et al.* (2006), kandungan amilosa sangat bervariasi tergantung pada sumber pati dan dipengaruhi oleh iklim dan kondisi tanah selama pertumbuhan tanaman.

Tabel 1 Konstituen tepung sorgum sebelum dan sesudah penambahan Bamyfil.

Konstituen	Tepung sorgum	Tepung sorgum terhidrolisis
Protein (%)	12,46	11,75
Lipid (%)	5,50	5,20
Amilosa (%)	39,10	12,10

Salah satu sifat amilosa adalah kemampuannya membentuk kompleks khususnya dengan lipid polar (French & Murphy, 1977). Lipid non-polar (disebut juga lipid “*non-starch*” terikat) akan berasosiasi dengan protein tepung, sedangkan lipid “*non-starch*” bebas sebagian besar merupakan gliko- dan fosfolipid yang bersifat polar (Delcour & Hosoney, 2009). Menurut Goering *et al.* (1975) lipid, khususnya lipid yang membentuk kompleks dengan amilosa, dapat mempengaruhi sifat-sifat pembentukan pasta pati dan tepung. Selain itu, amilosa juga sangat berperan dalam sifat-sifat pembentukan pasta dan pengembangan (Tester & Morrison, 1990).

Kandungan protein dan lipid tepung sorgum (masing-masing 12,46% dan 5,50%) sedikit lebih tinggi bila dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan oleh Suarni (2001) sebesar 10,11% dan



Gambar 4 Aktivitas amilase endogen dalam pati (jagung & singkong) dan tepung (gandum & sorgum). Pengukuran amilase endogen berdasarkan amilase yang terkestrak air pada pati jagung dan singkong serta tepung gandum dan sorgum. Pengukuran aktivitas dilakukan menggunakan metode Fuwa.

3,65%. Suarni (2001) juga melaporkan kandungan protein tepung gandum sebesar 11,74%. Kandungan protein tepung sorgum yang cukup tinggi menunjukkan tepung sorgum dapat digunakan sebagai alternatif substitusi tepung gandum. Protein merupakan salah satu konstituen utama dalam tepung yang sangat berperan dalam menghasilkan sifat-sifat tepung dan membentuk struktur makanan (Chanapamokkhot & Thongngam, 2007; Goesært *et al.*, 2009). Walaupun demikian jenis protein pada tepung sorgum berbeda dengan jenis protein pada tepung gandum yang menyebabkan perbedaan fungsionalitasnya.

Selain konstituen struktural berupa pati, protein dan lipid, tepung biasanya mengandung amilase endogen yaitu α - dan β -amilase. Untuk melihat kandungan amilase dalam tepung tersebut maka dilakukan penentuan aktivitas amilase endogen (Amendo). Tepung gandum memiliki aktivitas Amendo yang lebih tinggi dibandingkan Amendo tepung sorgum, sedangkan Amendo pada pati jagung dan singkong hanya menunjukkan aktivitas yang sangat kecil (Gambar 4). Hal tersebut disebabkan dilakukannya proses ekstraksi dengan air dalam pembuatan pati yang akan melarutkan sebagian besar Amendo dalam tepung.

KESIMPULAN

Bamyfil memiliki kemampuan untuk memecah pati mentah. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa granula tepung sorgum yang diberi perlakuan Bamyfil mengalami perubahan dan juga mengurangi kandungan amilosa sebesar 27%. Penelitian lebih lanjut untuk mempelajari perubahan sifat tepung

sorgum perlu dilakukan, sehingga dapat diaplikasikan pada produk pangan.

Ucapan Terima Kasih (Acknowledgment)

Kami ucapkan terimakasih kepada Kementerian Pendidikan Nasional atas pendanaan penelitian melalui Hibah Pasca pada tahun anggaran 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahza, A.B. (1998). *Aspek pengetahuan material dan diversifikasi produk sorgum sebagai substitutor terigu/pangan alternatif*. Dalam Laporan Lokakarya Sehari Prospek Sorgum sebagai Bahan Substitusi Terigu. PT. ISM Bogasari Flour Mills, Jakarta.
- Ansharullah. (1997). Characterization and extrusion of *Metroxylon* sago starch. *Ph.D Thesis*. NSW. School of Food Science. University of Western Sydney. Sydney.
- Antara. (2010). *Kebutuhan terigu nasional capai lima juta ton*. Melalui <<http://makassar.antaraneews.com/berita/17388/kebutuhan-terigu-nasional-capai-lima-juta-ton>> [7/12/2010]
- Chanapamokkhot, H. & Thongngam, M. (2007). The chemical and physico-chemical properties of sorghum starch and flour. *Kasetsart Journal*, 41, 343.
- Delcour, J.A. & Hosney, R.C. (2009). *Principles of Cereal Science and Technology*, 3rd ed. Association of Cereal Chemists, Inc, St. Paul.
- French, A.D. & Murphy, V.G. (1977). Computer modelling in the study of starch. *Cereal Foods World*, 22, 61–70.

- Fuwa, H. (1954). A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylose as the substrate. *Journal of Biological Chemistry*, 41(5), 583-603.
- Goering, K.J., Jackson, L.L., & DeHaas, B. (1975). Effect of some nonstarch components in corn and barley starch granules on the viscosity of heated starch-water suspensions. *Cereal Chemistry*, 52, 493-500
- Goesaert, H., Slade, L., Levine, H., & Delcour, J.A. (2009). Amylases and bread firming—an integrated view. *Journal of Cereal Science*, 50, 345–52
- Hasan, K., Ismaya, W.T., Kardi, I., Andiyana, Y., Kusumawidjaya, S., Ishmayana, S., Subroto, T. & Soemitro, S. (2008). Proteolysis of α -amylase from *Saccharomycopsis fibuligera*: characterization of digestion products. *Biologia*, 63(6), 1044-1050.
- Lagrain, B., Leman, P., Goesaert, H. & Delcour, J.A. (2008). Impact of thermostable amylases during breadmaking on wheat bread crumb structure and texture. *Food Research International*, 41, 819-827
- Matalanis, A.H., Campanella, O.H., & Hamaker, B.R. (2009). Storage retrogradation behaviour of sorghum, maize and rice starch pastes related to amylopectin fine structure. *Journal of Cereal Science*, 50, 74-81.
- Moore, G.R.P., do Canto, L.R. & Amante, E.R. (2005). Cassava and Corn Starch in Maltodextrin production. *Quimica Nova*, 28(4), 596-600.
- Nelson, N. (1944). A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*, 153, 375-380
- Singh, N., Kaur, L., & Singh Sandhu, K. (2006). Relationships between physical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. *Food Hydrocolloids*, 20, 532–542.
- Soemitro, S. (2005). Engineering of *Saccharomycopsis fibuligera* α -amylase. The first symposium on carbohydrate enzyme bioengineering. Bandung, 11 January 2005.
- Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195, 19–23.
- Suarni. (2001). Tepung Komposit Sorghum, Jagung, dan Beras untuk Pembuatan Kue Basah (Cake). *Risalah Penelitian Jagung dan Serealia Lain*, 6, 55-60
- Taylor, J.R.N., Schober, T.J. & Beanb, S.R. (2006). Novel food and non-food uses for sorghum and millets. *Journal of Cereal Science*, 44, 252–271.
- Tester, R.F. & Morrison, W.R. (1990). Swelling and gelatinization of cereal starches. Effect of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, 67, 551-557.
- Tester, R.F., Qi, X. & Karkalas, J. (2006). Hydrolysis of native starches with amylases. *Animal Feed Science and Technology*. 130(1-2), 39-54.
- van der Maarel, M.J.E.C., van der Veen, B., Uitdehaag, J.C.M., Leemhuis, H. & Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94, 137–155.