

EFISIENSI METODE ISOLASI SENYAWA GLUCOMANNAN DARI SINGKONG (*MANIHOT UTILISSIMA*) SECARA KIMIA DAN ENZIMATIS

EFFICIENCY METHOD OF ISOLATION OF GLUCOMANNAN COMPOUND FROM CASSAVA (*MANIHOT UTILISSIMA*) THROUGH CHEMICAL AND ENZYMATIC METHOD

Husniati

Balai Riset dan Standardisasi Industri Bandar Lampung, husniati.eni@gmail.com

ABSTRAK

Glucomannan adalah polisakarida larut air dan digunakan sebagai agen pengental, pengental makanan, dan *dietary fiber*. Penelitian ini bertujuan menentukan efisiensi metode isolasi senyawa glucomannan dari singkong menggunakan dua metode isolasi. Metode isolasi pertama adalah cara kimia yaitu mengekstraksi glucomannan dari tepung singkong menggunakan aquades dengan perbandingan 1:2 b/v dan etanol 95% sebagai pengendap. Metode kedua adalah cara enzimatis yaitu mengekstraksi glucomannan dari tepung singkong menggunakan enzim *a*-amilase lyquazyme (*crude enzyme*) sebanyak 12 g tepung singkong/1 mL enzim dalam buffer asetat pH 4.5. Kedua metode isolasi tersebut dibandingkan dengan cara menentukan rendemen masing-masing dan melihat pengaruh kedua metode isolasi tersebut melalui identifikasi struktur mikro dan analisis fasa. Hasil penelitian diperoleh rendemen glucomannan yang diisolasi secara kimia sebanyak 1,2% b/b sedangkan secara enzim diperoleh 2,7% b/b. Efisiensi metode isolasi cara enzim 2,3 kali lebih tinggi dibandingkan cara kimia. Hasil analisis struktur mikro dan identifikasi fasa kedua metode isolasi tidak memberikan hasil signifikan untuk salah satu fasa. Kedua metode isolasi tidak memberikan pengaruh terhadap kandungan fasa dan diperoleh 2 (dua) fasa yaitu manosa dan glukosa dengan rasio maltosa/glukosa kurang dari 1/1.

Kata kunci : glucomannan, singkong (*Manihot utilissima*), *a*-amilase lyquazyme, ekstraksi.

ABSTRACT

*Glucomannan is a polysaccharide which is soluble in water and is used as a gelling agent and food thickener, as well as dietary fiber. The aims of the research was to determine the efficiency of the method of glucomannan isolated compounds from cassava using two methods. The first method was a technique of chemical isolation using distilled water 1:2 w/v as extractor and 95% ethanol three times its volume and the precipitate was separated. The second method was done by adding lyquazyme *a*-amylase to get the glucomannan compound from cassava flour 12 g / 1 mL of enzyme in acetate buffer pH 4.5. Both methods are compared by the determination of their yield and see the effects of two methods is through the identification microstructure and the refinement phase profile. The results obtained glucomannan yields chemically about 1.2% w/b whereas 2.7% w/b of the enzyme. The efficiency of the method of enzyme 2.3 times higher than the chemical method. The results of the microstructure analysis and identification of phases from two methods are not significant results for one phase. Both methods has no effect to the phases content and consist of two phases i.e mannose and glucose which is ratio of mannose/glucose below 1/1.*

Keywords : glucomannan, cassava (*Manihot utilissima*), lyquazyme *a*-amylase, extraction.

PENDAHULUAN

Di Indonesia, singkong lebih dikenal sebagai ketela pohon atau ubi kayu. Singkong telah menjadi bahan pokok andalan rakyat Indonesia setelah beras, jagung, dan sagu mengingat kandungan utama singkong adalah karbohidrat. Pemanfaatan singkong lebih lanjut mempunyai prospek ekonomi lebih menguntungkan dari pada singkong hanya diolah secara langsung

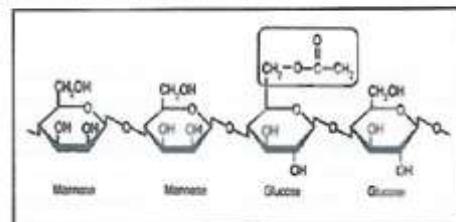
menjadi jenis panganan siap saji seperti kripik singkong, tape, gablek. Selain sebagai pangan siap saji, saat ini singkong juga telah diolah menjadi tepung singkong dan tapioka sebagai produk antara untuk keperluan industri lebih lanjut (Rahmat, 1997).

Pada penelitian terdahulu telah dilaporkan oleh Husniati dkk. (2009), singkong mengandung senyawa glucomannan. Upaya memperoleh

senyawa glucomannan dari umbi singkong merupakan salah satu cara meningkatkan nilai tambah penggunaan tanaman tersebut.

Glucomannan adalah senyawa polisakarida yang mudah larut dalam air dan digunakan sebagai agen pembuat gel dan pengental makanan (Wootton *et al.*, 1993; Dea & Morrison, 1975 dalam Vieira & Gil, 2005) serta sebagai *dietary fiber* yang membantu mengatasi konstipasi (Loening-Baucke *et al.*, 2004). Glucomannan ditemukan dalam ubi-ubi-an, akar, atau umbi tanaman.

Struktur glucomanan ditemukan tersusun atas rantai D-manosa yang berselang-seling dengan D-glukosa saling berikatan oleh ikatan $\alpha-(1,4)$ dengan rantai utama ini terasiliasi oleh gugus asetil. Gugus aktif dalam glucomanan adalah gugus asetil yang memiliki peran dalam memberikan pengaruh terhadap solubilitas dan sifat gel dalam air (Nishinari *et al.*, dalam Kuncheva *et al.*, 2007). Rasio perbandingan manosa/glukosa bervariasi mulai 4:1 sampai dibawah 1:1 (Meier & Reid, 1982; Hagglund, 2002). Struktur kimia senyawa glucomannan ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia senyawa glucomannan

Hasil penelitian Husniati *dkk.* (2009), melaporkan bahwa identifikasi struktur molekul glucomannan singkong ditemukan daerah pergeseran kimia pada 3-4 ppm untuk $^1\text{H-NMR}$ dan 60-80 ppm untuk $^{13}\text{C-NMR}$ yang menandakan puncak spektra senyawa gula kompleks polisakarida seperti manosa dan glukosa.

Sifat *dietary fiber* dalam glucomanan ditunjukkan dari ikatan $\delta-1-4$ -glikosidik yang tidak dapat tercerna oleh manusia, sehingga manfaat glucomanan sebagai serat yang larut air dan tidak memberikan asupan kalori. Oleh karenanya glucomanan cocok digunakan sebagai bahan makanan bagi mereka yang

membatasi kalori seperti penderita diabetes (Vuksan, 1999). Glucomanan juga memiliki potensi untuk menurunkan kadar kolesterol. Penelitian Gallaher *et al.* (2000), menunjukkan bahwa kadar kolesterol dalam hati mencit menurun hampir 60% pada kelompok yang berdiet glucomanan dibandingkan dengan yang berdiet selulosa.

Ada dua metode isolasi glucomannan yaitu cara kimia dan enzimatis. Cara kimia telah dilaporkan oleh Murtinah (1977) dan Zhaunbaeva *et al.* (2003) sedangkan cara enzim telah dilaporkan oleh Wootton *et al.* (1993). Isolasi cara kimia dilakukan melalui ekstraksi bahan baku dengan penambahan air. Kelemahan teknik ini adalah tidak dapat menghilangkan beta karoten yang bisa tertinggal di dalam ekstrak dapat mengganggu kejernihan gel. Wootton *et al.* (1993) melaporkan teknik ekstraksi cara enzimatis dan purifikasi menggunakan enzim selektif dari α -amilase dan β -amilase murni yang tidak terkontaminasi oleh aktivitas β -manase atau β -glukanase untuk menghindari depolimerisasi.

Pada penelitian ini akan dibahas mengenai efisiensi metode isolasi glucomannan cara kimia dan enzimatis. Kajian kedua metode isolasi melibatkan rendemen yang diperoleh dari kedua cara tersebut serta hasil analisis struktur mikro dan identifikasi fasa yang terkandung dalam senyawa glucomannan pada tanaman singkong sehingga diharapkan dapat memberikan informasi terhadap efisiensi teknologi ekstraksi glucomannan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan

Singkong (*Manihot utilissima*) diperoleh dari pasar tradisional di daerah Lampung Tengah untuk selanjutnya umbi segar tersebut dilakukan penepungan. Pelarut yang digunakan adalah aquades, 0,01 M buffer asetat pH 4,5, 95% etanol, dan enzim α -amilase lyquazyme 135 KNU/g.

Alat

Alat gelas, inkubator suhu, pompa vakum, oven, tabung selofan, difraktometer sinar-x (XRD), dan SEM (Scanning Electron Microscope).

Tempat pelaksanaan

Isolasi glucomannan dilakukan di Laboratorium Proses Baristand Industri Bandar Lampung. Penepungan singkong dilakukan di Politeknik Negeri Lampung. Identifikasi struktur mikro dilaksanakan di BATAN, Puspiptek Serpong.

Prosedur Kerja

Isolasi glucomannan cara kimia :

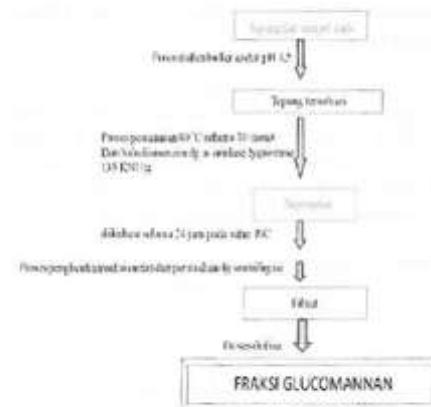
Proses isolasi glucomannan dilakukan dengan cara menambahkan aquades ke dalam bahan baku singkong yang sebelumnya telah dilakukan penepungan sebanyak 50 g. Setelah dilakukan optimasi, jumlah air yang ditambahkan ke dalam tepung singkong untuk mengekstrak glucomannan mempunyai perbandingan 2:1 v/v terhadap tepungnya (Husniati dkk. 2009). Selanjutnya dipanaskan selama 2 jam dengan pengadukan tetap pada suhu 45-55°C (Murtinah, 1977, dalam Lubis dkk., 2004). Cairan supernatan didekantasi dan dilakukan sentrifugasi pada 8000 rpm selama 10 menit. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan 95% etanol sebanyak tiga kali volumenya dan endapan yang terbentuk dipisahkan (Zhaunbaeva et al., 2003). Endapan dicuci dengan 95% etanol sebanyak 3 (tiga) kali dan dikeringkan dalam oven 40°C selama 2 (dua) malam. Skema isolasi cara kimia ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Skema isolasi cara kimia

Isolasi glucomannan secara enzimatis :

Tahapan isolasi glucomannan dilakukan dengan menyiapkan bahan baku tepung singkong sebanyak 180 g dan buffer asetat pH 4,5 dengan perbandingan 1:2 b/v. Tepung dipanaskan pada suhu 80°C selama 10 menit untuk menggelatinisasikan pati. Sebelum penambahan enzim α-amilase *lyquozyme*, larutan didinginkan. Enzim yang ditambahkan sebanyak 15 mL. Kemudian larutan dikukus selama 24 jam pada suhu 40°C. Reaksi hidrolisis dihentikan dengan pendidih selama 3 menit dan endapan dipisahkan dengan filtrasi menggunakan pompa vakum selama 1 jam. Selanjutnya, filtrat dialisa dalam tabung selofan menggunakan pelarut aquades untuk menghilangkan pengotor ion asetat atau molekul dengan berat molekul rendah. Proses dialisa dihentikan setelah beberapa kali menggantikan pelarut sampai pH pelarut mendekati pH 6-7. Hasil dialisa dikeringkan dengan oven untuk mendapatkan glucomannan. Skema isolasi cara enzimatis ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Skema isolasi cara enzimatis
Pengamatan:

Penentuan Rendemen :

Senyawa glucomannan yang telah dikeringkan kemudian dilimbang untuk ditentukan rendemennya. Persen rendemen ditentukan dari berat kering hasil isolasi glucomannan sebagai bagian dari bahan baku tepung singkong sesuai dengan formulasi berikut.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat kering glucomannan (g)} \times 100}{\text{Berat tepung singkong (g)}}$$

Analisis Struktur mikro dan Identifikasi Fasa

Karakterisasi struktur mikro sampel dilakukan menggunakan SEM (Scanning Electron Microscope) merek JEOL, tipe JED-2300 dengan spesifikasi karakterisasi : voltage = 20,0 kV dan pixel = 512 x 384. Sedangkan pengamatan kualitas dan kuantitas fasa-fasa yang ada di dalam sampel menggunakan peralatan X-Ray Diffractometer (XRD) merek Philip, tipe PW1710. Pengukuran pola difraksi sampel dilakukan dengan berkas sinar-x dari tube anode Cu dengan panjang gelombang, λ = 1,5406 Å, mode: continuous-scan, step size : 0,02°, dan time per step : 0,5 detik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Senyawa Glucomannan dalam Singkong

Hasil isolasi senyawa glucomannan dalam singkong yang sebelumnya telah diidentifikasi struktur molekulnya menggunakan $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ (Husniali dkk., 2009) maka rendemen yang diperoleh secara kimia dan enzimatis ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen senyawa glucomannan dalam umbi singkong

Cara Isolasi glucomannan	Berat bahan baku (g)	Berat kering (g)	Rendemen n % b/b
Kimia	50	0,6 0	1,2
Enzim	180	4,9 2	2,7

Penerapan metode isolasi cara kimia adalah ekstraksi senyawa glucomannan menggunakan aquades. Teknik ekstraksi pada prinsipnya adalah suatu teknik separasi atau pemisahan yang mengeksplorasi perbedaan sifat kelarutan dari masing-masing komponen campuran

terhadap jenis pelarut tertentu. Glucomannan mengandung gugus asetyl sehingga polisakarida ini mudah larut dalam air, sementara pati sebagai komponen utama dari singkong tidak akan terlarut dalam air pada suhu ruang. Pati dari singkong mempunyai suhu gelatinisasi granul pada suhu di atas 57°C (Torruco-Uco, 2007) dan ekstraksi glucomannan dari singkong dipercepat dengan pemanasan pada suhu sekitar 45–55°C tanpa melarutkan komponen patinya. Selanjutnya proses pemisahan polisakarida ini dari air dengan pengendapan menggunakan etanol 95%. Endapan dipisahkan untuk selanjutnya dilakukan proses pencucian sebanyak tiga kali bertujuan untuk melarutkan pengotor. Wootton et al. (1993), melarutkan karotenoid menggunakan isopropil alkohol (IPA) dan etanol. Kemudian endapannya dikeringkan dan diperoleh rendemen senyawa glucomannan dengan cara tersebut sebanyak 1,2% b/b.

Selain cara kimia, metode isolasi senyawa glucomannan dapat dilakukan dengan cara enzimatis. Teknik isolasinya menggunakan enzim amilase lyquazyme untuk menghidrolisis komponen patinya. Penggunaan crude enzyme ini bertujuan untuk menghidrolisis ikatan α -1-4 glikosidik sehingga dapat mengisolasi senyawa yang diinginkan terpisah dari senyawa lain yang telah terhidrolisis oleh enzim ini. α -Amilase akan bekerja menghidrolisis ikatan α -1-4-glikosidik dari rantai panjang karbohidrat menjadi oligosakarida dan selanjutnya menjadi manosa dan glukosa sementara senyawa lain selain yang berikatan α -1-4-glikosidik seperti glucomannan tidak akan terhidrolisis karena memiliki ikatan β -1-4-glikosidik. Kondisi aktivitas crude enzim diatur pada suhu 40°C, pH 4,5 dan konsentrasi enzim yang ada diharapkan dapat menghidrolisis secara optimal seluruh pati. Untuk optimasi jumlah enzim yang diberikan ditunjukkan dari hasil penambahan enzim dapat menurunkan viskositas maksimum dari keadaan awal tanpa penambahan enzim, native starch, (Wootton et al., 1993). Pada penambahan enzim amilase hingga 15 mL memberikan penurunan viskositas maksimum dan data amilografi menunjukkan hilangnya puncak

viskositas maksimum (data tidak dipublikasi). Langkah berikutnya adalah pemurnian glucomannan dari molekul lain sebagai pengotor dilakukan dengan cara dialisa. Hasil dialisa dikeringkan dan dilimbang dengan rendemen glucomannan diperoleh sebanyak 2,7% b/b.

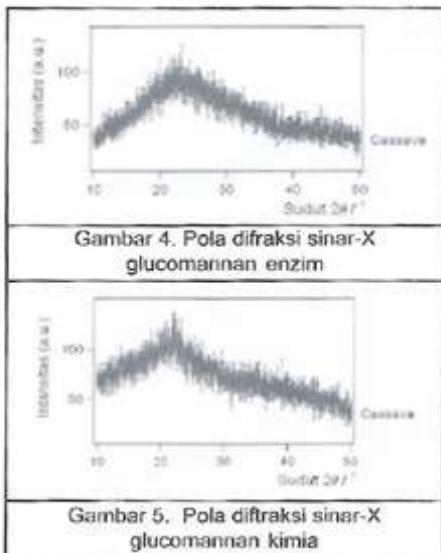
Efisiensi produksi erat kaitannya dengan teknik isolasi serta potensi yang ada untuk dieksplorasi. Dari kedua cara yang dilakukan, pencapaian rendemen maksimal diberikan oleh metode isolasi secara enzimatis. Indikasi perbedaan hasil tersebut berkaitan dengan kespesifikasi dari kerja enzim untuk mendegradasi pati hanya pada ikatan α -1,4 glikosidik (Pugh, 2000). Kespesifikasi lain bahwa enzim bekerja optimal pada kondisi reaksi yang dilakukan (Yamamoto, 1988), serta produk yang dihasilkan cenderung lebih murni oleh teknik dialisa. Namun pemakaian enzim juga memiliki kerawanan, bila α -amilase tercampur/terkontaminasi dengan β -amilase karena β -amilase dapat mendepolimerisasi senyawa glucomannan dan menghidrolisisnya menjadi unit-unit terkecil yang tersusun atas maltosa dan glukosa (Wootton et al., 1993).

Potensi glucomannan dalam setiap umbi ditemukan beragam. Glucomannan banyak diproduksi di Jepang dari umbi konjac sehingga sering disebut sebagai konjac glucomannan dan termasuk dalam varietas umbi *Amorphophallus* sp. yaitu varietas yang memiliki kandungan glucomannan tertinggi berkisar antara 6 - 17% berat umbi segar (Wootton et al., 1993; Loening-Baucke et al., 2004). Kiko et al. (1985), telah melaporkan hasil penelitiannya berkaitan dengan potensi glucomannan dalam umbi tanaman *Dioscorea japonica* Thunb dengan rendemen 0,15% dengan rasio manosa/glukosa 6/1. Zhaunyaeva et al. (2003), telah melaporkan potensi glucomannan dalam ubi tanaman *Narcissus poeticus* memberikan rendemen 6% dengan rasio manosa/glukosa adalah 30/1 sementara umbi *Amorphophallus konjac* memiliki rasio manosa/glukosa 1,6/1 (Nishinari et al., 1992; Jie et al., 2005). Belum banyak penelitian yang melaporkan aktivitas senyawa tersebut terhadap variasi dari

jumlah perbandingan manosa dan glukosa namun dapat diduga dari beberapa penelitian yang telah dilaporkan bahwa komposisi rasio memberikan keunikan tertentu terhadap bioaktivitasnya yang kemungkinan memiliki sifat farmakologis yang berbeda. Husniati & Medikasari (2010) melaporkan bahwa glucomannan singkong memiliki potensi sebagai agen prebiotik diketahui dari kehadiran glucomannan singkong menstimulasi pertumbuhan bakteri asam laktat, penurunan pH fermentasi, dan pembentukan asam lemak rantai pendek.

Identifikasi fasa dan analisis struktur mikro sampel glucomannan singkong

Hasil pengujian dengan difraksi sinar-X (XRD) pada sampel glucomannan ditunjukkan pada Gambar 4 dan Gambar 5 yang berturut-turut dilakukan dengan cara kimia dan enzimatis.



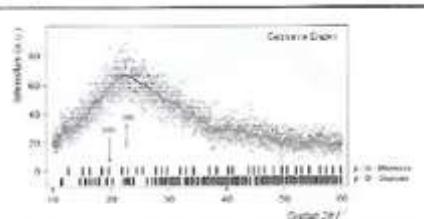
Gambar 4. Pola difraksi sinar-X glucomannan enzim

Gambar 5. Pola difraksi sinar-X glucomannan kimia

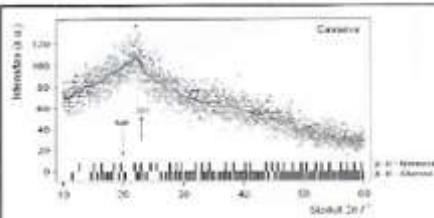
Kedua gambar tersebut memperlihatkan struktur glucomannan menyerupai amorf, hal ini ditandai dengan melebaranya puncak membentuk sebuah pola yang melengkung, walaupun diketahui bahwa struktur glucomannan menurut Al-Ghazzewi et al. (2007), adalah kristal maka struktur amorf yang demikian kemungkinan disebabkan oleh pengotor lain berupa polimer yang

menyelubungi glucomannan. Sinar-X akan terdifraksi apabila terjadi interferensi konstruktif yang saling menguatkan satu sama lain dari polimer kristalin bila memenuhi Hukum Bragg. Adanya pengotor amorf pada lapisan atasnya menyebabkan XRD tidak dapat mengukur glucomannan yang kemungkinan berada pada ketebalan di atas 5 mm. Pengotor tersebut memiliki struktur amorf terlilah dari difraksi yang terjadi tidak saling menguatkan, sinar terhambur, sehingga tidak terjadi puncak yang tajam.

Identifikasi fasa dari sampel glucomannan dari profil difraksi sinar-X ini ditunjukkan pada Gambar 6 dan Gambar 7. Database JCPDS – International Center for Diffraction Data (ICDD) digunakan untuk mengidentifikasi fasa (Abraham, 1988; Dimarco & Ramano, 1985). Melalui hasil identifikasi fasa dari pola difraksi sinar-X dapat diketahui komposisi rasio manosa terhadap glukosa dari senyawa glucomannan yang disolusi secara enzimatis maupun kimia.



Gambar 6. Refinement pola difraksi sinar-X glucomannan enzim.



Gambar 7. Refinement pola difraksi sinar-X senyawa glucomannan kimia

Hasil identifikasi fasa menunjukkan bahwa glucomannan mengandung fasa β -D-glukosa dan β -D-manosa. Hal yang sangat menarik dari kajian ini adalah pengaruh isolasi secara enzimatis maupun kimia tidak memberikan

perubahan komposisi kedua fasa β -D-glukosa dan β -D-manosa. Bidang Miller (040) merupakan bidang milik fasa β -D-manosa dengan intensitas puncak tertinggi, sedangkan bidang Miller (201) merupakan bidang milik fasa α -D-glukosa dengan intensitas puncak tertinggi pula. Tampak sampel glucomannan dari isolasi secara kimia dan enzimatis, menunjukkan bahwa bidang (040) lebih rendah dibandingkan dengan bidang (201), yang berarti bahwa fasa α -D-glukosa diduga sangat dominan dibandingkan dengan fasa β -D-manosa. Hal ini diperlihatkan pula pada hasil pengamatan dengan SEM pada Gambar 8 menunjukkan bahwa sampel memiliki bentuk partikel yang hampir *uniform* di seluruh permukaan. Partikel tersebut berbentuk seperti bola (*spherical*) dan distribusi ukuran partikelnya relatif sama. Dari hasil pengamatan ini memberikan arti bahwa partikel-partikel ini diduga kepunyaan fasa α -D-glukosa. Dengan demikian berdasarkan identifikasi fasa dan analisis struktur mikro dapat disimpulkan bahwa senyawa glucomannan dari bahan baku singkong diduga mengandung rasio manosa/glukosa kurang dari 1/1.



Gambar 8. Refinement pola difraksi sinar-X glucomannan enzim.

KESIMPULAN

1. Hasil isolasi cara kimia diperoleh rendemen senyawa glucomannan dalam singkong (*Manihot utilissima*) sebanyak 1,2% b/b, sedangkan isolasi cara enzimatis diperoleh rendemen senyawa glucomannan sebanyak

- 2,7% b/b. Efisiensi metode isolasi cara enzimatis 2,3 kali lebih tinggi dibandingkan cara kimia.
2. Efisiensi metode isolasi cara enzimatis tercapai dari optimasi reaksi hidrolisis oleh aktivitas enzim α -amilase *liquazyme* yang bekerja secara spesifik mendegradasi pati yang memiliki ikatan α -1,4-glikosidik. Enzim bekerja optimal pada pH 4,5 dengan suhu 40°C selama 24 jam.
 3. Hasil isolasi cara kimia dan enzimatis diperoleh 2 (dua) fase dalam senyawa glucomannan yaitu glukosa dan manosa. Rasio perbandingan manosa/glukosa adalah kurang dari 1/1. Kedua cara yang dilakukan tidak mengubah komposisi fase senyawa glucomannan terhadap dominasi salah satu fasa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Industri (BPPI) Kementerian Perindustrian melalui Dana Bansos Program Insentif Riset Diknas untuk Peneliti dan Perekayasa LPND dan LPD Tahun 2009.

DAFTAR ACUAN

- Abraham, S. N., 1988. Conservation of the D-Mannose-Adhesion Protein among Type 1 in Animal Lectins. *J. of Bio. Chem.*, 263: 9557.
- Al-Ghazzewi, F. H., Khanna, S., Tester, R. F., 2007. The Potential use of Hydrolysed Konjac Glucomannan as a prebiotic. *J. Sci. Food. Agric.*, 87: 1758-1766.
- Dea, I., C.M., & Morrison, A., 1975. Chemistry and Interaction of seed galactomannans. 241-312. In Vieira, M. C., & Gil, A. M., 2005. A solid state NMR study of lucust bean gum galactomannan and konjac glucomannan gel. *Carbohydrate Polymers*, 60: 439-448.
- Dimarco, A. A., and Ramano, A. H. 1985. D-Glucose Transport System of Zymomonas Mobilis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49: 151-157.
- Gallaher C, Munion J, Hesslink R, Wise J, Gallaher D. 2000. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats. *Nutrient Metabolism*, 130 : 2753-9.
- Hagglund, P., 2002. Mannan- hydrolysis by hemicellulases: Enzyme Polysaccharide interaction of a modular B-mannanase. Doctoral Dissertation. Department of Biochemistry Lund University, Sweden, p.19.
- Husniati, Devi, F.A., Medikasari, Hanafi, M., 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Glucomannan Dalam Tanaman Umbi Singkong, Walur, dan Gadung Indiginous Indonesia. *Prosiding SN SMAP, FMIPA UNILA*. Vol.1:793-797.
- Husniati dan Medikasari, 2010. *In vitro* Study of Glucomannan Extracted Chemically and Enzymatically from Cassava, Gadung, and Walur as Prebiotic Agent. *Prosiding International Seminar on Horticulture to Support Food Security*, Balai Keratun, Bandar Lampung, 22-23 June 2010.
- Jie, P., Yu-Jing Sun, Yong-Guang Guan, Shi-Ping Tian, 2005. Study on Effect of Structure to Property Stability of Glucomannan. *Chinese J. Struct. Chem.*, 24(9):1061-1065.
- Loening-Baucke V, Miele E, Staiano A. 2004. Fiber (glucomannan) is beneficial in the treatment of childhood constipation. *Pediatrics*. 113(3): 259-64.
- Meier, H., and J. S. G. Reid. 1982. Reserve Polysaccharides Other Than Starch in Higher Plants, p. 418-471. In F. A. Loewus and W. Tanner (ed.), *Encyclopaedia of Plant Physiology New Ser.*, Vol. 13A. Springer Verlag, Berlin.
- Murtinah, S., 1977. Pembuatan kripik dan isolasi glucomannan dari umbi ilies-iles. *Dalam Lubis, E. H., Djubaerah, E., Alamsyah, R., dan Nurdin, N.K.*, 2004. Mempelajari Pengolahan Glucomannan Asal Ilies-iles dan Penggunaannya dalam Produk Makanan. *Warta IHP*, 21 (2):31-41.
- Nishinari, K., Williams, P., and Phillips, G. Review of the Physicochemical Characteristics and Properties of Konjac Mannan, p. 199-222. In Kuncheva, M., Pavlova, K., Panchev, I., and Dobrev, S., 2007. Emulsifying Power of Mannan and Glucomannan Produced by Yeasts. *Intern. J. of Cosmet. Sci.*, 29: 373-384.
- Nishinari, K., Williams, P. A., and Phillips, G. O., 1992. Review of the physico-chemical characteristics and properties of konjac mannan. *Food Hydrocolloids*, 6(2): 199-222.
- Pugh, M.B., Editor, 2000. *Stedman's Medical Dictionary* (27th ed.). Baltimore, Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins. p. 65.

- Rahmat, R., 1997. Ubi Kayu : Budi Daya dan Pasca Panen. Kanisius Press, Yogyakarta, p.16. http://ks.google.co.id/books?id=Ik9JzG5IW0C&pg=PA16&dq=kandungan+gizi+tapioka&ei=MxLYSt_oHlqukATwiuiwCA&hl=en#v=onepage&q=kandungan%20 gizi% 20 tapioka&f=false diakses tgl. 16 Oktober 2009 pukul 13,42 WIB.
- Smallma, R. E., 1991. Metalurgi Fisik Modern, Edisi keempat, alih bahasa oleh Sriati Djaprie, Bustanul Arifin, dan Myrna A., Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Torruco-Uco, J, and Betancur-Ancona, D. 2007. Physicochemical and Functional Properties of Makal (*Xanthosoma yucatanensis*) Starch, *Food Chem.*, 101: 1319-1326
- Vuksan, V., Jenkins, D., J & Spadavora, P., 1999. Konjac-mannan (glucomannan) improves glycemia and other associated risk factor for coronary heart disease in type 2 diabetes: A randomized controlled metabolic trial. 913-919. In Fang, W., & Wu, P., 2004. Variation of konjac glucomannan (KGM) from *Amorphophallus* konjac and its refined powder in China. *Food Hydrocolloids*, 18: 167-170
- Woolton A, Luker-Brown M, Westcott R, Cheetham P., 1993. The extraction of a glucomannan polysaccharide from konjac corms (elephant yam, *Amorphophallus rivieri*). *Journal of Sci Food Agric.*, 61:429-33.
- Yamamoto, T., Kitahata, S., and Okada, S., Editor, 1988. Handbook of Amylases and Related Enzymes: Their Sources, Isolation Methods, Properties and Application. Pergamon Press, Oxford, p.18-22.
- Zhaunbaeva, K.S., Malikova, M. Kh., Rakhimov, D.A., and Khushbaktova, Z.A., 2003. Water-soluble Polysaccharides from *Narcissus poeticus* and their biological activity. *Chem.of Natural Compound*, 39 (6):520-522.