

Perbedaan Komposisi dan Oligomer FOS Inulin dari Umbi Dahlia Merah (*Dahlia sp. L*) Menggunakan Enzim Inulinase dari Kapang *Scopulariopsis sp.-CBS₁* dan β -Amylase sebagai Anti Kolesterol

Differences of Composition and Oligomer of FOS Inulin from Red Dahlia Tubers (Dahlia sp.L) Using Inulinase Enzymes of Scopulariopsis sp.-CBS₁ and β -Amylase as Anti-Cholesterol

Agustine Susilowati, Yeti MI, Puspa D Lotulung, dan Hakiki Melanie dan Aspiyanto

Pusat Penelitian Kimia – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong,
Tangerang Selatan-15314
E-mail: agustine_1408@yahoo.co.id

Diterima : 17 Juni 2015

Revisi : 23 Juni 2014

Disetujui : 25 Juni 2015

ABSTRAK

Isolasi mikroba pada kulit umbi dahlia merah (*Dahlia sp.L*) lokal (Sukabumi) menghasilkan kapang dominan (*Scopulariopsis sp.-CBS₁*) yang berpotensi sebagai sumber enzim inulinase. Aplikasinya dilakukan dalam hidrolisis inulin dari umbi yang sama dengan pembandingan hidrolisis menggunakan enzim β -Amylase yang masing-masing menghasilkan hidrolisat inulin A dan hidrolisat inulin B sebagai fruktooligosakarida (FOS). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan karakteristik oligomer dan komposisi FOS sebagai anti kolesterol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim inulinase dari kapang *Scopulariopsis sp.-CBS₁* menghasilkan hidrolisat inulin (A) dengan oligomer dominan pada T1,87, T2,63 dan T3,48 berturut-turut dengan berat molekul (BM) 185,99, 174,11 dan 174 Dalton (Da) dengan total oligomer 79, BM antara 75,71–924,94 Da. Pada hidrolisat dengan enzim β -Amylase (B) dihasilkan oligomer dominan pada T1,7, T2,0 dan T2,45 berturut-turut dengan BM 174,11, 173,31 dan 181 Da dengan total oligomer 67, BM antara 143 – 949 Da. Disimpulkan bahwa enzim inulinase *Scopulariopsis sp.-CBS₁* lebih berpotensi sebagai bahan anti kolesterol dibandingkan dengan enzim β -Amylase karena lebih mampu menghidrolisis polimer fruktosa inulin, sehingga lebih mudah difermentasi oleh bakteri-bakteri usus.

kata kunci: *Scopulariopsis sp.-CBS₁*, β -Amylase, FOS, oligomer, serat inulin.

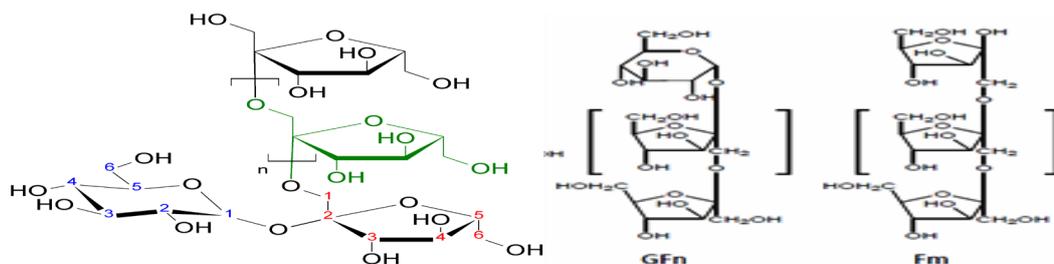
ABSTRACT

Isolation of microbes in red dahlia (Dahlia sp. L) tuber skin from local (Sukabumi) produces dominant (Scopulariopsis sp.-CBS₁) fungi as source of inulinase enzyme. Its application as crude inulinase enzyme that is conducted in inulin hydrolysis from similar tuber with the comparison of hydrolysis using β -Amylase enzyme yields in hydrolysate A and hydrolysate B, respectively as fructooligosaccharides (FOS). The goal of this experiment is to find out characteristic difference of oligomeric and composition of FOS as anti-cholesterol. Result of experiment shows that inulinase enzyme of Scopulariopsis sp.-CBS₁ produces inulin hydrolysate (A) with dominant oligomer at T1.87, T2.63 and T3.48 of molecular weight (MW) of 185.99, 174.11 and 174 Dalton (Da.), at intensity of 100 percent with oligomeric total of 79 with MW range of 75.71–924.94 Da. At hydrolysate using β -Amylase (B) enzyme, it produces dominant oligomer under T1.7, T2.0 and T2.45 with MW of 174.11, 173.31 and 181 Da., and at intensity of 100 percent with oligomeric total of 67 with MW range of 143–949 Da. The conclusions indicate that inulinase enzyme of Scopulariopsis sp.-CBS₁ has more potential compared to that of β -Amylase enzyme as an anti-cholesterol agent, which can better hydrolyse inulin fructose polymer, so that the dietary fibers are easier to be fermented by colon bacteria.

keywords: Scopulariopsis sp.-CBS₁, β -Amylase, FOS, oligomeric, inulin fiber.

I. PENDAHULUAN

Fruktooligosakarida (FOS) dapat dihasilkan melalui hidrolisis inulin dari umbi dahlia merah (*Dahlia* sp. L) lokal (Sukabumi) dengan menggunakan enzim inulinase. Enzim ini dihasilkan oleh kapang *Scopulariopsis* sp.-CBS₁, yang diisolasi dari umbi yang sama (Susilowati, dkk., 2012). Proses hidrolisis enzimatik pada inulin memungkinkan untuk diperoleh oligoglukosa dan oligofruktosa sebagai serat larut air (*Soluble Dietary Fiber*, SDF), sedangkan komponen yang tak terhidrolisis sebagai serat tak larut air (*Insoluble Dietary Fiber*, IDF). Telah diketahui bahwa inulin merupakan polimer yang terdiri dari unit-unit monomer fruktosa yang dihubungkan satu dengan lain oleh ikatan β -(2-1) glikosidik dengan satu unit terminal glukosa dan termasuk dalam polimer fruktan, seperti ditunjukkan pada Gambar 1.

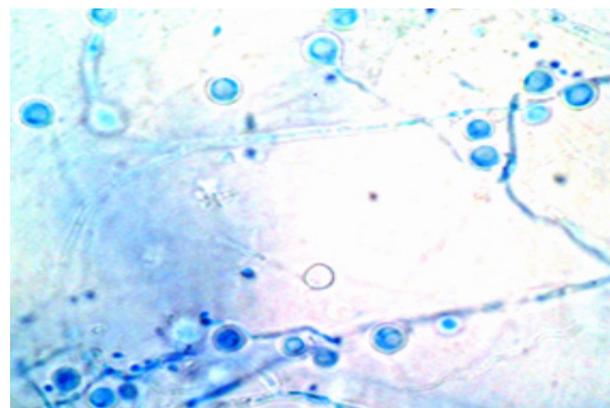


Gambar 1. (a) Struktur Kimia Inulin (Roberfroid, 2007) dan (b) fruktooligosakarida (Leenheer and Hoebregs, 1994).

FOS mengandung campuran oligomer dan polimer β -(2-1)-fruktosa yang terdiri dari 2- > 60 fruktosil. Struktur kimia FOS ditunjukkan dengan simbol GFn (G, unit glukosil, F, unit fruktosil, n = jumlah unit terikat oleh (2-1)-fruktosa (Gallagher, 2008; Coussement & Franck, 2001; Vandamme & Derycke, 1983; Roberfroid, 2007). FOS dapat dimanfaatkan oleh (*Bifidobacterium* sp dan *Bacteroides* sp) dalam usus besar dan memiliki kemampuan untuk membentuk piruvat, selanjutnya membentuk asam lemak rantai pendek (*Short Chain Fatty Acids*, SCFAs) diantaranya asam asetat, asam propionat dan asam butirat yang dapat menghambat sintesa kolesterol dan menurunkan sekresi triglycerol (Ooi & Liong, 2010). Dengan demikian, FOS merupakan bahan pangan suplemen yang dapat membantu mengatasi masalah kelebihan kolesterol dan berbagai penyakit jantung dan pembuluh darah.

Kapang *Scopulariopsis* sp secara bebas ditemukan di alam dan mampu memiliki aktifitas galactosyltransferase karena dapat menghasilkan enzim β -galaktooksidase sehingga dapat menghasilkan galaktooligosakarida (Pastore & Park, 1980). Isolat kapang *Scopulariopsis* sp-CBS₁ diketahui memiliki aktifitas inulinase sebesar 0,0872 U/mL, yang mampu meningkatkan SDF dalam hidrolisat inulin 86,04 persen dari SDF inulin (1,84 persen berat kering) menjadi SDF pada hidrolisat inulin sebesar 13,182 pada pH 5, konsentrasi enzim inulinase 12 persen (v/b inulin) dan 30°C selama 120 jam (Susilowati & Lotulung, 2012). Gambar 2 memperlihatkan kapang *Scopulariopsis* sp-CBS₁.

Hidrolisis enzimatik untuk memperoleh FOS dalam bentuk SDF dan IDF dapat juga dilakukan dengan menggunakan enzim



Gambar 2. Kapang *Scopulariopsis* sp-CBS₁ (Susilowati, 2013).

pemotong polimer pati lainnya yaitu enzim β -Amylase (α -1,4-glukanmaltohidrolase E.C. 3.2.1.2.) yang akan memotong glukosa yang terdapat pada ujung rantai linier inulin dan merupakan enzim golongan hidrolase pada

proses sakarifikasi pati yang berperan dalam pemecahan makromolekul karbohidrat untuk menghasilkan molekul karbohidrat rantai pendek (sederhana). Dalam proses hidrolisis enzimatis pada inulin dengan menggunakan jenis enzim berbeda, memungkinkan untuk diperoleh karakteristik oligomer inulin yang potensial sebagai anti kolesterol. Karakteristik FOS sebagai SDF dan IDF dari hidrolisat dipengaruhi oleh faktor kondisi proses hidrolisis diantaranya aktifitas inulinase, pH, konsentrasi enzim, suhu dan waktu hidrolisis. Dengan perbedaan kondisi proses dimungkinkan untuk diperoleh komposisi hidrolisat yang lebih optimal. Penggunaan *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy* (LC-MS) dalam identifikasi ini dipilih karena LC-MS merupakan gabungan dari *chromatography* dan *mass spectroscopy*. Dengan *chromatography* akan terpisahkan campuran molekuler berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi dan distribusi molekul dalam fasa diam (adsorben) dan fasa gerak (eluen), sedangkan *mass spectroscopy* akan mengionisasi analit berdasarkan prinsip *electrospray ionisation* (ESI) menjadi fase gas (fine aerosol LC-MS akan memisahkan monomer hidrolisat dan mengidentifikasi berat molekulnya (Djulia Onggo, dkk., 1998). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan karakteristik oligomer fruktooligosakarida hasil hidrolisis enzim inulinase kasar dari *Scopulariopsis* sp-CBS₁ dan enzim β -Amylase sebagai SDF, melalui identifikasi monomer dengan metoda analisis LC-MS, sehingga diketahui lebih dalam tentang sifat fungsionalnya sebagai anti kolesterol.

II. METODOLOGI

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan utama penelitian ini adalah umbi dahlia merah (*Dahlia* sp. L) lokal (Sukabumi), enzim inulinase kasar dari *Scopulariopsis* sp-CBS₁ dari P2K-LIPI, enzim β -Amylase dari NOVO, bahan-bahan kimia untuk proses dan analisis. Peralatan proses yang digunakan adalah peralatan hidrolisis skala laboratorium yaitu *water bath* dilengkapi dengan *shaker*, sistem mikrofiltrasi sel berpengaduk (Amicon), membran mikrofiltrasi 0,15 μ m, homogenizer dan instrument analisis utama adalah spektrofotometer dan pH-meter dan LC-MS dengan LC (Eichhorn & Knepper, 2001).

2.2. Rancangan Penelitian dan Analisis

Penelitian ini dilakukan menggunakan inulin umbi dahlia merah (*Dahlia* sp. L) lokal (Sukabumi) hasil ekstraksi, gelatinisasi dan pengendapan dengan etanol pada kondisi terbaik (pelumatan pada rasio 1 : 2, pH 10, etanol 50 persen) (Susilowati, dkk., 2012). Inulin tersebut masing-masing dihidrolisis menggunakan enzim inulinase kasar *Scopulariopsis* sp-CBS₁ (konsentrasi 24 persen v/b inulin, suhu 30°C selama 120 jam, pH 5) dan enzim β -Amylase (konsentrasi 0,02 persen (v/b inulin), suhu 60°C selama 120 menit, pH 5). Analisis dilakukan terhadap SDF, IDF dan total padatan (metode Gravimetri), gula reduksi (metode Somogyi-Nelsen), total gula (Metode Fenol-Sulfat) (Anonymous, 1995), inulin (metode N. Nelson) (Chaplin & Kennedy, 1994) dan aktifitas spesifik enzim inulinase (metode DNS) (Niness, 1999). Identifikasi oligosakarida sebagai SDF dilakukan terhadap ekstrak atau permeat hasil pemurnian melalui LC-MS (Mariner Biospectrometry) dengan LC (Hitachi L 6200) (Eichhorn & Knepper, 2001). Proses dilakukan dengan 2 kali ulangan proses, pengolahan data dilakukan secara diskriptif berdasarkan hasil rata-rata analisis.

2.3. Tahapan Proses

2.3.1. Pembuatan dan Hidrolisis Inulin

Umbi dahlia dicuci bersih, dilumat dengan penambahan air (2 bagian) pada umbi (1 bagian), disaring lolos 60 mesh, diatur pH 10, digelatinisasi pada 85 – 90°C selama 30 menit dan dihomogenisasi 4000 rpm selama 15 menit. Suspensi gel selanjutnya ditambahkan etanol 50 persen (v/v), didekantasi pada suhu 10°C selama 18 jam dan dilelehkan (thawing) pada suhu ruang sehingga diperoleh suspensi inulin (Anonymous, 2002a). Pada suspensi ini selanjutnya dilakukan hidrolisis masing-masing menggunakan enzim inulinase *Scopulariopsis* sp-CBS₁ pada kondisi masing-masing konsentrasi 24 persen (v/b inulin), suhu 30°C selama 120 jam, pH 5 dalam *shaker* disertai agitasi sehingga diperoleh hidrolisat inulin (A), sedangkan hidrolisis menggunakan enzim β -Amylase dilakukan pada konsentrasi 0,02 persen (v/b inulin), suhu 60°C selama 120 menit, pH 5 sehingga diperoleh hidrolisat inulin (B).

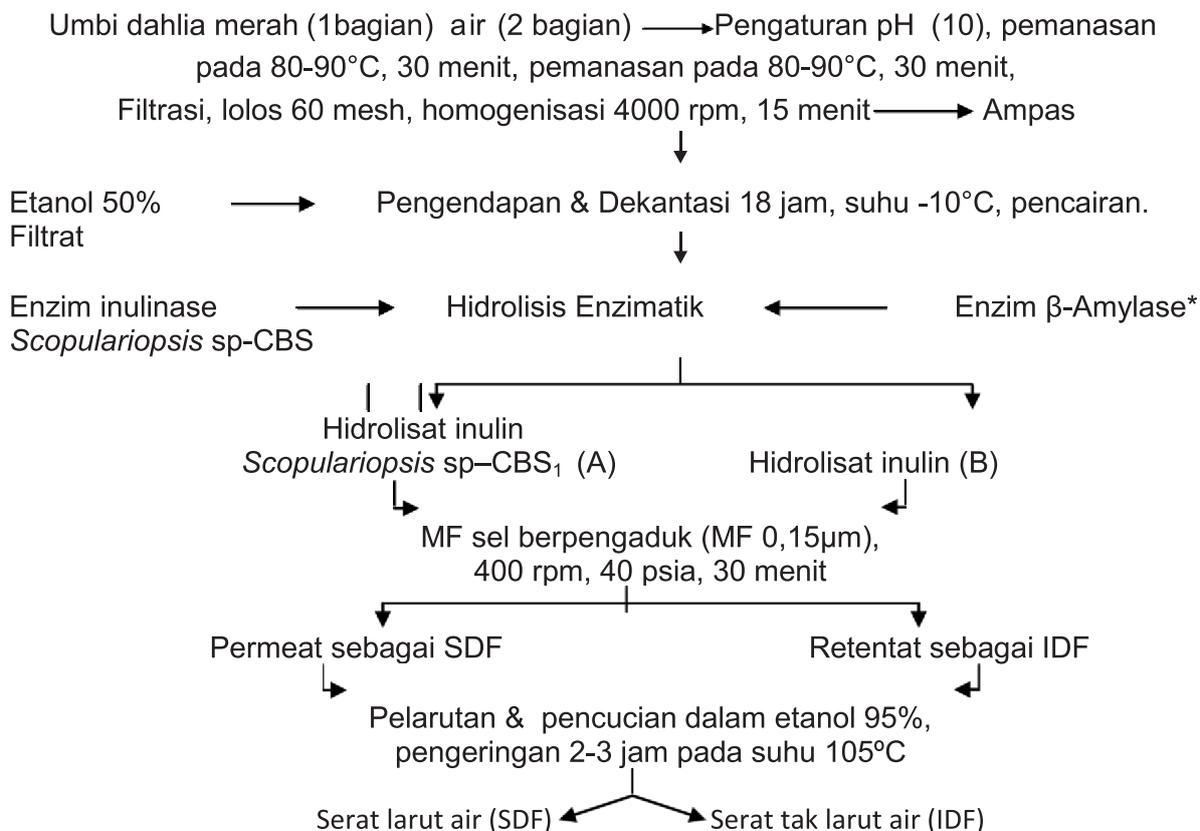
2.3.2. Analisis dan Perolehan SDF dan IDF

Hidrolisat inulin diisikan dalam sistem sel MF dengan pengaduk berkapasitas 180 mL dan menggunakan membran mikrofiltrasi 0,15 μm . Kemudian suspensi diaduk dengan kecepatan putar pengaduk 400 rpm, tekanan 40 psia selama 30 menit dengan mengalirkan gas nitrogen dari tabung nitrogen. Permeat yang lolos ditampung sebagai SDF, sedangkan retentat/pekatan sebagai IDF (Anonymous, 2002a). Pada akhir proses MF, membran dalam sel berpengaduk dibilas dengan *aquades*. Percobaan yang sama dilakukan pada sampel lain sesuai rancangan penelitian dengan kondisi operasi (tekanan, kecepatan putar pengaduk) yang sama. Retentat/pekatan dan permeat/ekstrak selanjutnya dipresipitasi menggunakan etanol masing sebagai IDF dan SDF dengan cara melarutkan dalam 4 volume etanol 95 persen, disaring, dicuci dengan etanol 70 persen 3 kali, etanol 95 persen 2 kali dan aseton 2 kali (Porski, dkk., 1983). Komponen yang tercuci selanjutnya dikeringkan selama 2 - 3 jam pada suhu 105°C dan serbuk kering yang terbentuk dari pekatan/

retentat dan ekstrak/permeat hidrolisat masing-masing merupakan IDF dan SDF murni. Proses hidrolisis enzimatik untuk memperoleh serat inulin ditunjukkan pada Gambar 3.

2.3.3. Identifikasi Oligomer Hidrolisat Inulin Melalui LC-MS.

Permeat atau ekstrak hasil pemurnian hidrolisat inulin A dan hidrolisat inulin B digunakan sebagai contoh. Analisis oligomer dilakukan melalui LC-MS menggunakan Mariner Biospectrometry. Sistem LC diintergrasikan dengan Q-t of mass spectrometer melalui sistem ESI (*Electrospray Ionisation*) dimana scan mode dilakukan pada kisaran 100 – 1200 m/z pada suhu 140°C, LC (Hitachi L 6200) menggunakan kolom C18 (RP 18) Supelco dengan panjang kolom 250 x 2 mm dengan ukuran partikel 5 μ . Jenis pelarut adalah air yang mengandung 0,3 persen asam asetat (A) dan methanol yang mengandung 0,3 persen asam asetat (B) pada rasio 90 bagian methanol dan 10 bagian air dengan laju alir 1 mL/menit dan volume injeksi 20 μl (Eichhorn & Knepper, 2001).



Keterangan: *variasi perlakuan penelitian.

Gambar 3. Skema Proses Perolehan Inulin, SDF dan IDF Melalui Hidrolisis Enzimatik Menggunakan Enzim Inulinase *Scopulariopsis sp-CBS₁* dan Enzim β -Amylase

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakteristik Inulin dan Enzim Inulinase *Scopulariopsis* sp–CBS₁

Ekstraksi inulin dilakukan melalui pelumatan dari umbi dahlia merah 1 bagian dengan 2 bagian air pada pH 10, yang akan menghasilkan gel inulin sebagai suspensi keruh, kecoklatan. Penambahan etanol 50 persen menjadikan suspensi ini menjadi lebih kental serta berwarna putih susu sebagai inulin yang berpotensi sebagai sumber serat inulin. Komposisi inulin menunjukkan total padatan sebesar 4,24 persen. Gula reduksi 2 mg/mL, inulin 57,12 persen (berat kering), total gula 1 mg/mL, SDF 1,84 persen (berat kering) dan IDF 5,817 persen (berat kering). Dari komposisi ini memperlihatkan bahwa IDF lebih dominan daripada SDF, sehingga inulin ini lebih berpotensi

inulinase kasar *Scopulariopsis* sp–CBS₁ berupa suspensi encer dengan gradasi warna antara kuning kecoklatan sampai coklat tua menyerupai air teh. Enzim kasar ini dihasilkan dari hasil centrifuge (4000 rpm, 15 menit) suspensi *Scopulariopsis* sp–CBS₁ yang dihasilkan pada pertumbuhannya pada media selektif yang mengandung inulin 1 persen dan bahan-bahan pengkaya lainnya selama 5 hari pada suhu 45°C dari stock kultur dalam media PDA. Aktifitas inulinase *Scopulariopsis* sp–CBS₁ adalah 0,012 U/mL (Susilowati dan Lotulung, 2012). Gambar 4a, 4b dan 4c berturut-turut menunjukkan isolat *Scopulariopsis* sp–CBS₁, suspensi inulin umbi dahlia merah lokal, enzim inulinase kasar dari *Scopulariopsis* sp–CBS₁.

3.2. Pengaruh Proses Hidrolisis Terhadap Komposisi Hidrolisat Inulin



Gambar 4. (a) Suspensi inulin umbi dahlia merah lokal . (b) Isolat *Scopulariopsis* sp–CBS₁, (c) enzim inulinase kasar dari *Scopulariopsis* sp–CBS₁.

sebagai pengikat lemak karena memiliki tingkat kemurnian < 92 persen (57,12 persen), total padatan < 95 persen (4,239 persen) dan derajat polimerisasi ± 50 . Namun inulin ini masih dibawah standar inulin menurut standar ORAFIT (Belgia) oleh karena proses pembuatannya berdasarkan proses kimia (gelatinisasi, pengendapan dengan etanol) sedangkan inulin standar melalui hidrolisis enzimatik menggunakan enzim inulinase spesifik (Anne & Franck, 2000). Enzim

Hidrolisis inulin dari umbi dahlia merah lokal dengan menggunakan enzim inulinase kasar *Scopulariopsis* sp–CBS₁ dan enzim β -Amylase masing-masing pada kondisi optimal pH 5, konsentrasi 24 (persen v/b inulin), suhu 30°C selama 120 jam dan pH 5, sedangkan konsentrasi 0,1 (persen v/b pati inulin), suhu 30°C selama 120 menit masing-masing menghasilkan suspensi kental berwarna coklat sebagai hidrolisat inulin A dan hidrolisat inulin B

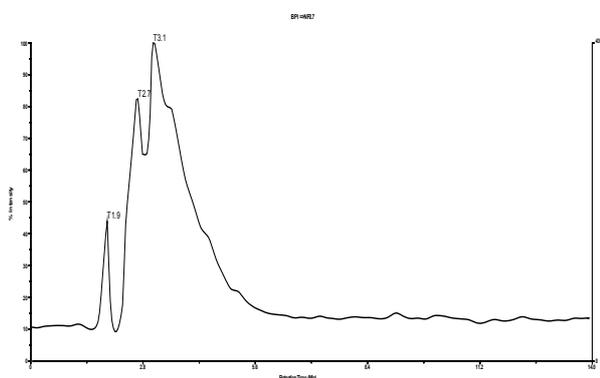
Tabel 1. Komposisi Hidrolisat Inulin Hasil Hidrolisis Menggunakan Enzim Inulinase Kasar *Scopulariopsis* sp–CBS₁ dan enzim β -Amylase pada Kondisi Optimal

Jenis Hidrolisat	Komposisi					
	SDF (% berat kering)	IDF (% berat kering)	Total Padatan (%)	Total Gula (mg/mL)	Gula Reduksi (mg/mL)	Inulin (% berat kering)
A	6,28	5,93	5,92	4,33	2,98	32,97
B	1,72	6,37	5,71	3,39	5,55	87,56
C*	1,84	5,82	4,24	1	2	57,12

Keterangan:* inulin sebelum mengalami hidrolisis.

dengan perolehan komposisi berbeda, seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Perbedaan komposisi pada kedua jenis hidrolisat diduga disebabkan terutama oleh jenis enzim dan kondisi optimal hidrolisisnya. Enzim β -Amylase (NOVO) memiliki tingkat kemurnian dan aktifitas tinggi dengan kondisi hidrolisis telah teruji dan stabil sehingga dihasilkan hidrolisat dengan komposisi lebih baik. Meskipun demikian, hal ini juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lainnya, seperti jenis substrat. Inulin merupakan polimer fruktosa yang memiliki gugus glukosa pada ujung terminal rangkaian fruktosa, sehingga diduga hanya gugus tersebut



Gambar 5. Kromatogram oligomer FOS sebagai SDF antara 0 – 14 menit dari hidrolisat inulin A menggunakan enzim inulinase kasar *Scopulariopsis* sp–CBS₁.

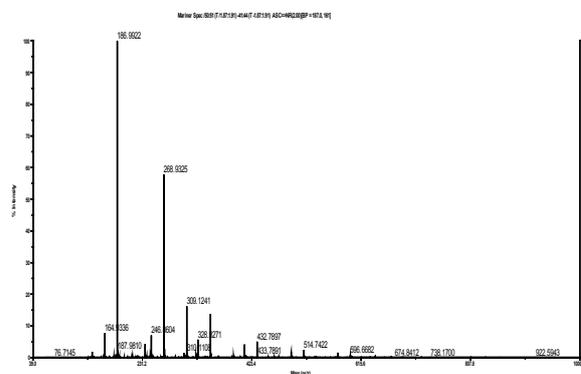
yang dapat dipotong oleh enzim β -Amylase. Hal ini menyebabkan perolehan SDF lebih rendah (1,73 persen berat kering) daripada hidrolisat A (6,28 persen berat kering). Komposisi komponen lain cenderung tidak memperlihatkan perbedaan nyata terkecuali terhadap gula reduksi dan inulin. Hal ini berkaitan dengan aktifitas enzim dalam menghidrolisis inulin, dimana enzim inulinase *Scopulariopsis* sp–CBS₁ akan lebih mampu memotong polimer fruktosa apabila dibandingkan dengan enzim β -Amylase. Enzim β -Amylase bekerja dengan menginversi konfigurasi posisi atom C(1) atau C nomor 1 molekul glukosa dari α menjadi β dan memutus ikatan amilosa maupun amilopektin dari luar molekul dan menghasilkan unit-unit maltosa dari ujung non pereduksi pada rantai polisakarida. Bila tiba pada ikatan alfa-1,6 glikosida aktivitas enzim ini akan berhenti (Anonymous, 2002 b). Diketahui *Scopulariopsis brevicaulis* juga berkemampuan untuk menghasilkan enzim fruktosyltransferase

dan enzim galactooligosaccharida yang mampu menghasilkan FOS (Akhmad, 2010 ; Santos, dkk., 2009) sehingga akan berkontribusi terhadap perolehan SDF. Pada keadaan ini, hidrolisat B menunjukkan kadar inulin lebih tinggi (87,56 persen berat kering) daripada hidrolisat inulin A (32,97 persen berat kering) karena tidak seluruh inulin dapat dihidrolisis oleh enzim β -Amylase. Secara keseluruhan hidrolisis inulin menggunakan enzim inulinase *Scopulariopsis* sp–CBS₁ dan β -Amylase pada masing-masing kondisi hidrolisis mampu meningkatkan SDF dan IDF masing-masing 70,71 persen dan 1,71 persen, sedangkan hidrolisis inulin menggunakan enzim β -Amylase menurunkan SDF sebesar 6,7 persen namun meningkatkan IDF sebesar 8,67 persen apabila dibandingkan dengan inulin sebelum mengalami hidrolisis dengan kata lain komposisi hidrolisat inulin menggunakan enzim inulinase *Scopulariopsis* sp–CBS₁ lebih baik daripada hidrolisat inulin menggunakan enzim β -Amylase.

3.3. Identifikasi SDF Sebagai Oligomer Fruktooligosakarida (FOS)

Identifikasi FOS memperlihatkan bahwa terdapat perbedaan karakteristik oligomer yang ditunjukkan dalam kromatogram pada kedua jenis hidrolisat tersebut. Hidrolisat inulin A dengan waktu retensi antara 0 – 10 menit diperoleh 3 puncak (*peak*) dominan sebagai T1,9, T2,1 dan T3,1 dengan intensitas berturut-turut 50, 40 dan 100 persen, seperti ditunjukkan Gambar 5.

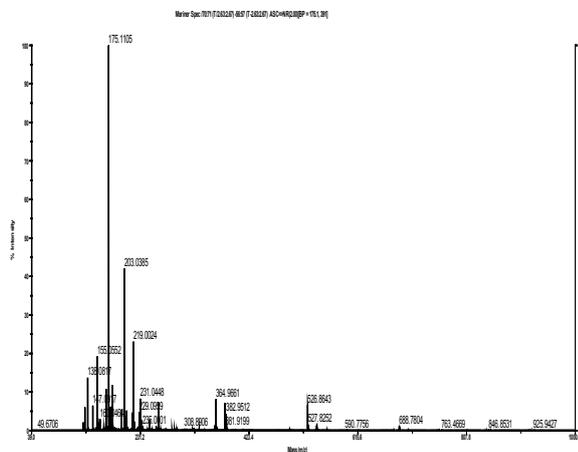
Gambar 6 memperlihatkan kromatogram T1,87 (\approx 1,9). Dengan mass spektra antara 99 – 1000 m/z memperlihatkan 25 oligomer dengan BM berkisar 75,71 – 921,6 Da. Oligomer



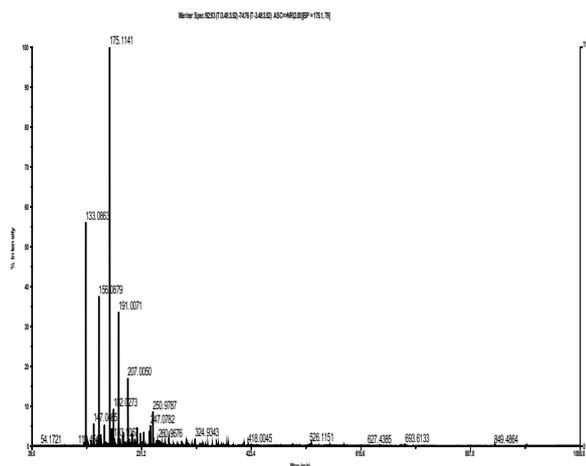
Gambar 6. Mass spectra dari T 1,87 antara 99 -1000 m/z dari kromatogram inulin A.

didominasi BM masing-masing 185,99 dan 267,93 Da., yang ditunjukkan dengan intensitas masing-masing 100 dan 58 persen, sedangkan oligomer lainnya menunjukkan intensitas lebih rendah, bervariasi antara 0 – 15 persen.

Kromatogram T2,63 ($\approx 2,68$) dengan mass spektra antara 99 – 1000 m/z memperlihatkan 22 oligomer dengan BM berkisar 48,67 – 924,94 Da. Oligomer didominasi BM masing-masing 174,11 dan 202,03 Da., yang ditunjukkan dengan intensitas masing-masing 100 dan 43 persen, sedangkan oligomer lainnya menunjukkan intensitas lebih rendah, bervariasi antara 0 – 22 persen, seperti ditunjukkan pada Gambar 7 dan Kromatogram T3,48 ($\approx 3,05$) diperlihatkan pada Gambar 8.



Gambar 7. Mass spectra dari T 2,63 antara 99 -1000 m/z dari Kromatogram inulin A

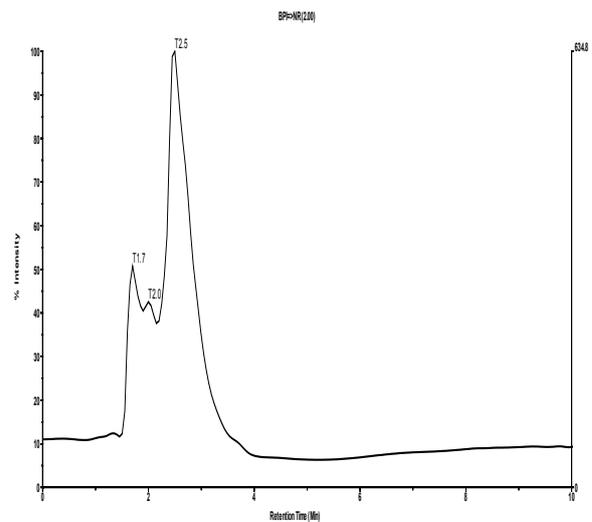


Gambar 8. Mass spectra dari T 3,48 antara 99 -1000 m/z dari kromatogram inulin A.

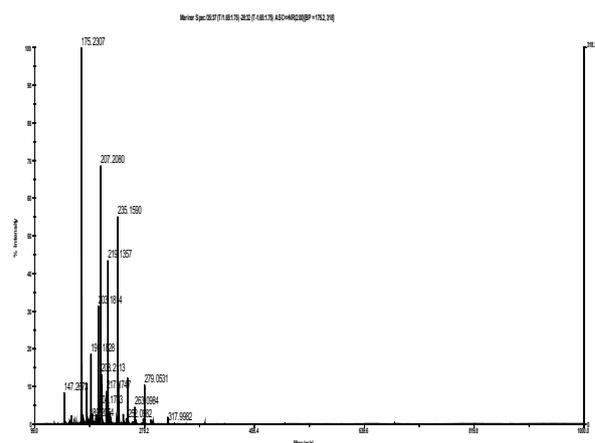
Dengan mass spektra antara 99 – 1000 m/z memperlihatkan 32 oligomer dengan BM berkisar 53,17 – 848,48 Da. Oligomer didominasi

BM berturut-turut 174,11 dan 132 Da., yang ditunjukkan dengan intensitas masing-masing 100 dan 58 persen, sedangkan oligomer lainnya menunjukkan intensitas lebih rendah, bervariasi antara 0 - 46 persen.

Pada hidrolisat dari hidrolisis menggunakan enzim β -Amylase, dihasilkan 3 puncak (*peak*) dominan sebagai T1,7, T2,0 dan T2,5 dengan waktu retensi antara 0 - 10 menit, masing-masing dengan intensitas 50, 43 dan 100 persen seperti ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Kromatogram oligomer FOS sebagai SDF antara 0 – 10 menit dari hidrolisat inulin B menggunakan enzim β -Amylase.

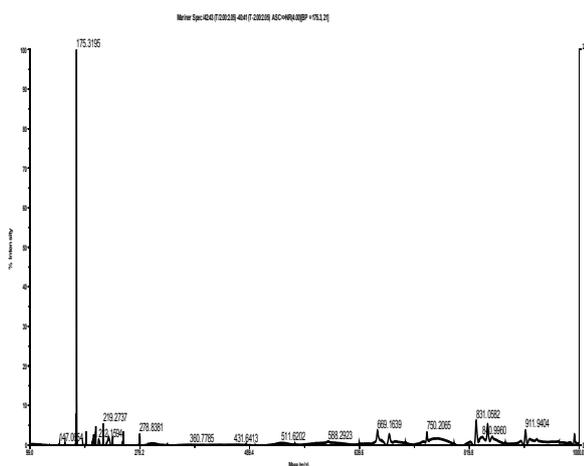


Gambar 10. Mass spectra dari T 1,7 antara 99 -1000 m/z dari kromatogram inulin B.

Mass spektra T1,7 yang ditunjukkan pada Gambar 10. Dihasilkan 26 oligomer yang didominasi oleh oligomer dengan berat molekul 174,23, 206,21, 234,15, 234,16, 218,13 dan

202,18 dengan intensitas berturut-turut 100, 70, 65, 45 dan 33 persen sedangkan oligomer lainnya pada berat molekul antara 143 – 949 Da., dengan intensitas antara 9 – 20 persen.

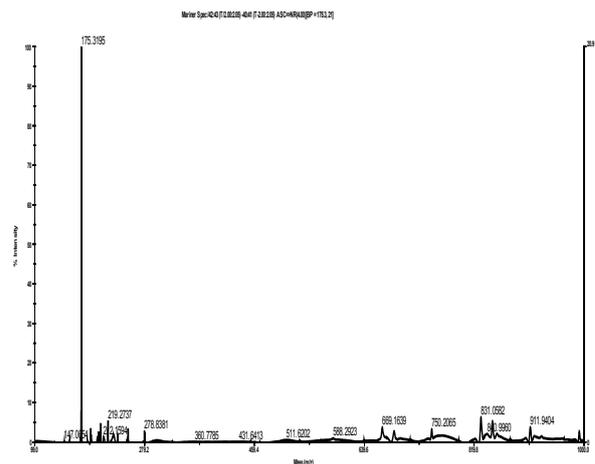
Pada mass spektra T2,0 (≈ 2) menunjukkan dominasi hanya pada oligomer dengan berat molekul 174,31 Da., pada intensitas 100 persen. Oligomer lainnya memiliki intensitas rendah (< 5 persen) sejumlah 22 dengan berat molekul antara 146 – 910 Da. seperti ditunjukkan pada Gambar 11.



Gambar 11. Mass spectra dari T 2,0 antara 99 -1000 m/z dari kromatogram inulin B.

Pada mass spektra T2,45 ($\approx 2,499$) menunjukkan dominasi pada oligomer dengan berat molekul 132,29, 181,25, dan 146,29 Da., pada intensitas berturut-turut 79, 100 dan 34 persen. Oligomer lainnya (19 oligomer) memiliki intensitas lebih rendah antara 0 – 25 persen dengan berat molekul antara 113 - 846,33 Da., seperti ditunjukkan pada Gambar 12.

Dari identifikasi karakteristik oligomer yang dihasilkan oleh kedua jenis hidrolisat, tampak bahwa hidrolisat dari *Scopulariopsis* sp–CBS₁ secara keseluruhan menghasilkan oligomer dominan pada T1,87, T2,63 dan T3,48 berturut-turut dengan berat molekul 185,99, 174,11 dan 174 Da., masing-masing pada intensitas 100 persen dengan total oligomer 79 dengan berat molekul antara 75,71 - 924,94 Da. Pada hidrolisat dari enzim β -Amylase secara keseluruhan menghasilkan oligomer dominan pada T1,7, T2,0 dan T2,45 berturut-turut dengan berat molekul 174,11, 173,31 dan 181 Da., masing-masing pada intensitas



Gambar 12. Mass spectra dari T 2,0 antara 99 -1000 m/z dari kromatogram inulin B.

100 persen dengan total oligomer 67 dengan berat molekul antara 143 – 949 Da. Keragaman berat molekul oligomer dengan kisaran berat molekul lebih rendah (75,71 - 924,94 Da. < 143 - 949 Da.) menjelaskan bahwa enzim inulinase lebih mampu menghidrolisis inulin karena seluruh polimer fruktosa dimungkinkan dapat lebih terpotong apabila dibandingkan dengan penggunaan enzim β -Amylase.

IV. KESIMPULAN

Dari proses hidrolisis inulin menggunakan enzim inulinase kasar dari *Scopulariopsis* sp–CBS₁ dan enzim β -Amylase dihasilkan komposisi hidrolisat dan karakteristik oligomer fruktooligosakarida yang berbeda. Komposisi hidrolisat inulin dengan menggunakan *Scopulariopsis* sp–CBS₁ lebih baik daripada hidrolisat inulin dengan menggunakan enzim β -Amylase. Pada hidrolisat inulin dengan menggunakan *Scopulariopsis* sp–CBS₁ terjadi peningkatan SDF dan IDF masing-masing sebesar 70,71 persen dan 1,71 persen, sedangkan hidrolisis inulin dengan menggunakan enzim β -Amylase diperoleh penurunan SDF sebesar 6,7 persen namun terjadi peningkatan IDF sebesar 8,67 persen apabila dibandingkan dengan inulin sebelum hidrolisis. Identifikasi oligomer sebagai FOS menunjukkan bahwa proses hidrolisis dengan menggunakan *Scopulariopsis* sp–CBS₁ menghasilkan oligomer lebih banyak (79) dan dengan BM lebih rendah (75,71 - 924,94 Da.) apabila dibandingkan tanpa hidrolisis (67) dengan kisaran berat molekul lebih tinggi (143 - 949 Da.) Atau dengan kata lain hidrolisat inulin

dengan menggunakan *Scopulariopsis* sp-CBS₁ dimungkinkan sebagai bahan untuk anti kolesterol lebih baik apabila dibandingkan hidrolisat inulin dengan menggunakan enzim β -Amylase.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry*. AOAC Inc., Washington D.C.
- Anonymous. 2002 a. *Katalog dan Manual Stirred Ultrafiltration Cells*, Amicon.
- Anne M.E. & Franck. 2000. *Inulin and Oligofruktose*, ORAFI Active Food Ingredients, Research and Development, Belgium, dalam LFRA INGREDIENTS HANDBOOK, Prebiotics and Probiotics, Glen Gibson & Fiona Angus, LFRA Limited Randalls Roads, Leatherhead, Surrey KT22 7RY.
- Anonymous. 2002 b. *Amylase*, Wikipedia. Available at "<http://en.wikipedia.org/wiki/Amylases>."
- Chaplin, M. F. & J. F. Kennedy. 1994. *Carbohydrate Analysis : A Practical Approach*. 2nd. Edition. Oxford University Press. Oxford.
- Coussement P. & Franck A. 2001. Inulin and Oligofruktose. 2001. *Dalam* : Cho S. S., Dreher M. L., editor. *Handbook of Dietary Fiber*. New York : Marcel Dekker. Hal. 721 – 32.
- Djulia Onggo, *et al.*, 1998. General Principles in Electrospray Mass Spectrometry: A New Technique in Mass Spectral Analysis, *Journal JMS* Vol. 3 No. 2, hal. 115 – 131, Wikipedia. Available from 3 Februari 2013.
- Eichhorn, P. & Knepper, T. P. 2001. Electrospray Ionization Mass Spectrometric Studies on the Amphoteric Surfactant Cocamidopropylbetaine, *Journal of Mass Spectrometry* : 36 : 677 – 684, ESWE Institute for water Research and water Technology, Soecheinstr, 158, D-65201Wiesbaden, Germany.
- Gallagher M. L. 2008. The Nutrients and Their Metabolism. *Dalam* : Mahan L. K., Stump S. E., editor. *Krause's Food and Nutrition Therapy*. Edisi ke-12. Missouri : Saunders Elsevier. 2008. Hal. 47 – 8.
- Leenheer, D & L., Hoebregs, H. 1994. Progress in evolucidation of composition of chicory inulin, *Starch*; 1994; 46(5); 193 – 6 dalam Anne M. E. Frank. 2000. *Inulin and Oligofruktose*, ORAFI Active Food Ingredients, Research and Development, Belgium, LFRA Ingredients Handbook, Prebiotics and Probiotics, Glen Gibson & Fiona Angus, LFRA Limited Randalls Roads, Leatherhead, Surrey KT22 7RY.
- Niness, K. R. 1999. Inulin and Oligofruktose : What Are They ? *Journal of Nutrition*. Suppl. 129, 1402S - 14604S.
- Ooi, L. G. & Liong, M.T. 2010. Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of in Vivo and in Vitro Findings, *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 11, pp. 2499-2522.
- Pastore, G.M. & Park, Y.K. 1980. *Production of Galactooligosaccharide by Scopulariopsis sp.* *Ciênc. Tecnol. Aliment* [online]. 2009, Vol. 29, n.3, pp. 682-689. ISSN 1678-457X. Available from <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000300035>. Wikipedia Diunduh 14 November 2012.
- Porsky, L., N. G. Johansson, C. G., Halima. H. and Siljestron, M. 1983. Rapid Enzymatic Assay of Insoluble and Soluble Dietary Fiber. *J. Agric Food Chem.*, Vol. 31. pp. 476-482
- Roberfroid. 2007. Inulin-type Fructans : Functional Food Ingredients. *J. Nutr* 2007;137: 2493-502S. Available from: <http://jn.nutrition.org/cgi/reprint/249302502>. Diunduh 14 November 2012.
- Santos, Rosângela dos, Simiqueli, Ana Paula Resende & Pastore, Gláucia Maria. 2009. *Production of Galactooligosaccharide by Scopulariopsis sp.*. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. Vol. 29, n.3, pp. 682-689. ISSN 1678-457X.. Available at <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000300035>, Av. Brasil, 2880 Caixa Postal 27113001-970 Campinas SP-Brasil. Diunduh dari revista@sbcta.org.br, 30 Januari 2013.
- Susilowati, A & Lotulung, P. D. 2012. *Alternatif Enzim Inulinase dari Aspergillus sp-CBS₃ dan Scopulariopsis sp-CBS₁ dalam Perolehan Serat Inulin dari Umbi Dahlia Merah (Dahlia spp. L) Lokal untuk Anti Kolesterol*. *Prosiding Seminar Nasional XXI Jaringan kerjasama Kimia Indonesia (JASAKIAI)*, Yogyakarta, 6 Desember. ISSN : 0854-4778.
- Susilowati, A. 2013. *Alternatif Enzim Inulinase Dari Kapang Endofit Hasil Isolasi Kulit Umbi Dahlia Merah (Dahlia spp) Lokal dan Aplikasinya Sebagai Sumber Enzim Inulinase untuk Perolehan Serat Inulin*. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi 4*. Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim, Semarang 19 Juni. ISBN 978-602-99334-2-0.
- Susilowati, A., Melanie, H., Maryati, Y., Aspiyanto. 2012. *Pengembangan Pangan Fungsional Berbasis Inulin dari Umbi Dahlia (Dahlia sp. L) Sebagai Serat Pangan Larut Air (SDF) untuk Anti Kolesterol*. Laporan Hasil Penelitian, Program Tematik, Kedepuitan IPT, Tahun Anggaran

2012, Pusat Penelitian Kimia - LIPI, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang.

Vandamme & Derycke. 1983. Microbial Inulinases Process, Properties and Applications. *Adv. App1. Microb.* 29 : 139 – 176.

BIODATA :

Agustine Susilowati lahir di Brebes, 14 Agustus 1958. Menyelesaikan S1 di Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Industri Universitas Pasundan Bandung tahun 1991 dan S2 Pascasarjana Magister Management, Institut Pengembangan Wiraswata Indonesia (IPWI), Jakarta, tahun 1998.

Jeti Mulyati Iskandar lahir di Rangkasbitung, 27 November 1951. Menyelesaikan S1 di Jurusan Biologi Fakultas MIPA, ITB Bandung, lulus tahun 1976 dan S2 Pascasarjana Jurusan Kimia Fakultas MIPA, ITB, Bandung tahun 1989.

Aspiyanto lahir di Curup (Curup (Bengkulu), 20 Oktober 1957. Menyelesaikan S1 di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh November (ITS), Surabaya, lulus tahun 1983.

Puspa Dewi Narij Lotulung lahir di Bandung 1 Oktober 1958. Menyelesaikan S1 di Jurusan Kimia Fakultas MIPA UNPAD, Bandung, lulus tahun 1984 dan S2 Pascasarjana, Kimia, Science and Engeneering, Waseda University, Tokyo, Jepang lulus tahun 1991.

Hakiki Melanie lahir di Padang 01 Juni 1980. Menyelesaikan S1 di Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Andalas, Padang tahun 2002 dan S2 Pascasarjana Food Science, University of Queensland, Brisbane, Australia, lulus 2009.